



**Centro de Investigación en alimentación y
Desarrollo, A. C.**

**ACEITE ESENCIAL DE ORÉGANO ADICIONADO A
RECUBRIMIENTOS DE PECTINA COMO TRATAMIENTO
ANTIFÚNGICO, ANTIOXIDANTE Y SABORIZANTE EN
FRUTOS DE TOMATE**

por:

I. Q. Isela Rodríguez García

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.



Dr. Pablo Wong González
Director General

APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de la tesis de Isela Rodríguez García la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias



Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala
Director de tesis



Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar
Asesor



M. C. Brenda Adriana Silva Espinoza
Asesor



M. C. Manuel Reynaldo Cruz Valenzuela
Asesor

AGRADECIMIENTOS

CONACYT por el apoyo prestado durante el posgrado.

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

Coordinación de Tecnologías de Alimentos de Origen Vegetal

A mi Director de tesis, Dr. Jesús Fernando Ayala Zavala que confió en mí y me dio todo su apoyo, también por su gran paciencia y dedicación que hizo de esta maestría una gran experiencia.

A los miembros del comité de tesis: Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar, M. C. Brenda Adriana Silva Espinoza y M. C. Manuel Reynaldo Cruz Valenzuela

A mis amistades: Thalía, Rosy, Francisco Javier, Luis, Juan, Tavo, Rigo, Cristian, América, Elena, Iván, Araceli, Giovanna, Marisol, Gaby, Victoria, Ramón, Roxana, Elda. Gracias por tantos momentos agradables que me hicieron pasar e hicieron de esta estancia un tiempo agradable.

DEDICATORIA

Primero quiero dar gracias Dios por haberme permitido estar en CIAD y poder lograr terminar la maestría.

A mis padres, Estela y Víctor, que me apoyaron desde Mexicali, con palabras de aliento para terminar la maestría. A mi hermano Víctor, que ha sido el mayor ejemplo a seguir de mi vida. También a mi sobrino Sebastián que quiero mucho, y que aún cuando estaba lejos siempre me decía cosas por teléfono que me levantaban mucho el ánimo.

A mis abuelos y tíos que siempre tuve el apoyo de ellos.

A mis grandes amigos del alma de CIAD que quiero mucho, Lili y Valentín, que hicieron de estos dos años una de las mejores experiencias de mi vida.

A mis amigas de la preparatoria, Liz, Kennya, Mitsy, Eliana y Thalía, que seguimos unidas después de 10 años de amistad.

A mis amigas de Mexicali, Karla y Mariel, que siempre estuvieron al pendiente de mí, a pesar de la distancia siempre seguimos unidas.

CONTENIDO

	Página
Lista de Figuras	viii
Lista de Cuadros.....	x
Resumen	xi
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	4
Importancia de los Frutos de Tomate	4
Recubrimientos Comestibles	6
Componentes Químicos Presentes en el Aceite Esencial de Orégano	8
AEO como un Aditivo Antioxidante en Alimentos	9
AEO como un Aditivo Antimicrobiano en Alimentos	11
Propiedades Sabor-Aroma del Orégano como Aditivo Alimentario	16
HIPÓTESIS.....	18
OBJETIVOS.....	19
Objetivo General.....	19
Objetivos Específicos	19
MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
Identificación de Compuestos Volátiles de AEO por CG-MS.....	20
Actividad Antifúngica <i>In Vitro</i> del AEO.....	21
Actividad Antioxidante <i>In Vitro</i> de los Recubrimientos.....	21
Contenido de Carvacrol en los Recubrimientos.....	22
Inhibición del Radical Estable DPPH.....	22
Inhibición del Radical ABTS	23
Material Vegetal.....	23
Caracterización de los Tomates	23
Color	25
Firmeza.....	25
Sólidos Solubles Totales (SST)	25

Acidez Titulable y pH.....	26
Actividad Antioxidante de los Tomates Tratados con los Recubrimientos de Pectina + AEO.....	26
Índice de Deterioro Fúngico en los Tomates Cubiertos.....	26
Análisis Sensorial de Olor y Sabor.....	27
Análisis Estadístico.....	28
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
Etapa I: Formulación de Recubrimientos Comestibles Antifúngicos y Antioxidantes a Base de Pectina y AEO.....	29
Caracterización de los Compuestos Volátiles del AEO.....	29
Actividad antifúngica <i>in vitro</i> de AEO contra <i>A. alternata</i>	31
Contenido de Carvacrol y Capacidad Antioxidante.....	33
Etapa II: Evaluar el Efecto de la Aplicación de los Recubrimientos Comestibles Sobre el Deterioro Fúngico, Capacidad Antioxidante y Aceptabilidad Sensorial de Frutos de Tomate.....	37
Efecto antifúngico en frutos de tomates.....	37
Capacidad antioxidante de los tomates tratados con los recubrimientos formulados.....	41
Análisis Sensorial.....	46
CONCLUSIONES.....	49
RECOMENDACIONES.....	50
REFERENCIAS.....	51

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura</i>	Página
1. Mecanismo antimicrobiano de carvacrol y timol desintegrando la membrana externa, liberando el contenido citoplasmático y consecuentemente, cambiando la permeabilidad pasiva de la célula.....	11
2. Mecanismo antifúngico de carvacrol y timol, los cuales se unen a enzimas claves de pared celular y membrana celular, mediante puentes de hidrógeno con sus sitios activos. Lo que trae como consecuencia cambios en la adhesión celular, contenido de iones, síntesis de ergosterol, provocando todo esto la muerte celular.....	13
3. Perfil de compuestos volátiles de AEO por CG-MS: 1: β -pineno, 2: α -terpineno, 3: eucaliptol, 4: γ -terpineno, 5: <i>p</i> -cimeno, 6: linalilo antranilato, 7: timol metil éter, 8: 4-terpinenol, 9: cariofileno, 10: α - cariofileno, 11: timol, 12: o-tert-butilfenol, 13: carvacrol, 14: 3-tert-butil-4-metoxi fenol	30
4. Efecto antifúngico <i>in vitro</i> de AEO contra <i>A. alternata</i> , incubada a 28 °C por 5 días	32
5. Contenido de carvacrol de los recubrimientos de pectina adicionados con AEO	34
6. Capacidad antioxidante de los recubrimientos de pectina adicionados con AEO utilizando los ensayos del radical DPPH (A) y ABTS (B)	35
7. Efecto antifúngico de AEO en tomates inoculados con <i>A. alternata</i> almacenados durante 12 días a 12.5 °C.....	38
8. Efecto global del índice de deterioro fúngico en tomates tratados e inoculados con <i>A. alternata</i> almacenados durante 12 días a 12.5 °C.....	40

9. Contenido de fenoles totales (A) y capacidad antioxidante (B) de los frutos de tomate tratados con los recubrimientos de pectina adicionados con AEO almacenados durante 12 días a 12.5 °C.....	42
10.Efecto global del contenido de fenoles totales (A) y capacidad antioxidante (B) de los frutos de tomate tratados con los recubrimientos de pectina adicionados con AEO almacenados durante 12 días a 12.5 °C.....	44
11.Evaluación de la aceptabilidad de olor y sabor de los frutos de tomate, almacenados 12 días a 12.5 °C.....	47

LISTA DE CUADROS

<i>Cuadro</i>	Página
1. Notas de aroma/sabor de los componentes que otorgan el sabor característico del AEO.....	16
2. Caracterización fisicoquímica de los frutos de tomate.....	24

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue formular recubrimientos de pectina con propiedades antioxidantes y antifúngicas otorgadas por la adición del aceite esencial de orégano (AEO). Además de evaluar el efecto de su aplicación sobre el deterioro fúngico, capacidad antioxidante y aceptabilidad sensorial de frutos de tomate. Los compuestos volátiles mayoritarios del AEO fueron carvacrol (47.4%), *p*-cimeno (26.44%) y timol (3.02%), a los cuales se les atribuye el aroma, la actividad antioxidante y antimicrobiana de este aceite. La incorporación del AEO (15.7, 25.9 y 36.1 mg/mL) incrementó ($p < 0.05$) el contenido de carvacrol y la capacidad antioxidante (ensayo del radical DPPH y ABTS) de los recubrimientos. De manera específica, la concentración mayor del aceite (36.1 mg/mL) en los recubrimientos formulados tuvo el mayor incremento del contenido de carvacrol, inactivación de DPPH y ABTS, siendo 2.6, 2.9 y 3.3 veces mayor que los recubrimientos adicionados con 15.7 mg/mL de AEO. Por otro lado, las tres concentraciones de aceite adicionado fueron efectivas para inhibir el crecimiento *in vitro* de *A. alternata* y las concentraciones más altas fueron las más efectivas para inhibir el crecimiento del hongo en tomates inoculados. Adicionalmente, los frutos tratados presentaron un incremento ($p < 0.05$) en el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante. En cuanto a la aceptabilidad sensorial de olor de los frutos tratados no se observaron diferencias ($p > 0.05$); sin embargo, la concentración más baja (15.7 mg/mL), pectina y el testigo fueron las de mayor aceptabilidad en sabor. Estos resultados comprueban el potencial que tiene el AEO como agente antifúngico, además de incrementar el contenido y capacidad antioxidantes en los frutos tratados.

Palabras claves: *Alternaria alternata*, carvacrol, *Lippia graveolens*.

ABSTRACT

The main goal of this work was to formulate pectin edible coatings with antioxidant and antifungal properties granted by the addition of oregano essential oil (OEO). Also, to evaluate the effect of the application of the formulated coatings on the fungal decay, antioxidant capacity and sensorial acceptability of tomato fruit. The major volatile compounds of the OEO were carvacrol (47.4%), *p*-cymene (26.44%) and thymol (3.02%), which previously studies described as aroma, antioxidant and antimicrobial agents. The incorporation of OEO (15.7, 25.9 y 36.1 mg/mL) in the pectin coatings increased ($p < 0.05$) its carvacrol content and antioxidant activity (inhibiting DPPH and ABTS radical). Specifically, the higher OEO concentration (36.1 mg/mL) added to the formulated coatings showed the highest carvacrol content, DPPH and ABTS inhibition activities, with values of 2.6, 2.9 and 3.3 times higher than the coatings added with 15.7 mg/mL of OEO. Besides, the three concentration of OEO were effective to inhibit the growth *in vitro* of *A. alternata*, and the highest concentrations were the most effective to inhibit the fungi growth on inoculated tomatoes. Additionally, the fruits treated showed a higher total phenol content and antioxidant activity ($p > 0.05$). Concerning the sensorial evaluation of odor acceptability, there were no differences ($p > 0.05$) between the different applied treatments; however, the lowest concentration (15.7 mg/mL), pectin and control showed higher flavor acceptability. These results demonstrated the potential of OEO as antifungal agent, in addition to increase the antioxidant content and activity of the treated tomatoes.

Keywords: *Alternaria alternata*, carvacrol, *Lippia graveolens*.

INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales (AE) son mezclas de compuestos volátiles obtenidos de plantas, entre éstos están, el de clavo, romero, tomillo y orégano, los cuales poseen actividad antimicrobiana (Hossain et al., 2008, Benavides et al., 2012). Existen datos publicados de la actividad antibacteriana de AEs aplicados en alimentos, mostrando diferentes valores de eficacia dependiendo el tipo: orégano/ clavo/ semilla de cilantro/ canela> tomillo> menta > romero> mostaza> cilantro/ salvia (Burt, 2004). Lo anterior hace evidente que el aceite esencial de orégano (AEO) es uno de los aceites antimicrobianos más potentes. Estudios recientes también han mostrado la efectividad antioxidante de este aceite, lo que sugiere que podría ser utilizado en la elaboración de alimentos con propiedades antioxidantes funcionales (Loizzo et al., 2009), con una mejor estabilidad a la oxidación lipídica (Handl et al., 2008), y con un olor y sabor nuevo (Ayala-Zavala et al., 2009). Por estas razones el AEO puede ser considerado una valiosa fuente de aditivo para la industria alimenticia.

Existen una gran variedad de especies de plantas que son designadas con el nombre de orégano (Amadio et al., 2011). La mayoría de ellas pertenecen a los géneros *Origanum* (*Lamiaceae*) y *Lippia* (*Verbenaceae*). Dentro del género *Origanum* existen diferentes especies, las cuales son nativas de la región de mediterráneo, siendo *O. vulgare* L. y otras especies relacionadas (*O. viride* y *O. virens*) las más representativas (Martínez-Rocha et al., 2008). De igual manera, varias especies conforman el género *Lippia*, dentro de las cuales se encuentran dos tipos de oréganos populares mexicanos: *Lippia graveolens* Kunt (sinónimo: *Lippia berlandieri* Schauer) y *Poliomintha longiflora* A. Gray (Rivero-Cruz et al., 2011). En general, la familia del orégano se

compone de muchas especies, todas ellas con diferentes sabores y aroma. Es por esta razón que es importante analizar las características de los diferentes tipos de oréganos así como su composición química.

Además de ser utilizado como aditivo antioxidante y antimicrobiano en los alimentos, el orégano es tradicionalmente usado en la preparación de los platillos italianos, griegos y mexicanos (Bansleben et al., 2010). Sus hojas pueden ser agregadas a sopas, guisos, salsas, estofados, huevos, aceite de oliva, pizza y platillos basados en tomate (America, 2005). Esta información revela que el orégano también se utiliza como agente saborizante o sazonzador en la mayoría de las cocinas alrededor del mundo.

Se ha demostrado que carvacrol y timol, son los principales responsables de la actividad antifúngica y antioxidante del AEO (Govaris et al., 2010). Como resultado de su carácter lipofílico, pueden causar una expansión en la membrana fúngica, la alteración en las enzimas de mantenimiento, y alteración de los procesos de transporte de iones (Cristani et al., 2007). Estos compuestos también actúan como agentes antioxidantes, ya sea a través de la inhibición de enzimas causantes de oxidación o por donación de átomos de hidrógeno o un electrón a los radicales libres (Sánchez-Escalante et al., 2003). Esto hace evidente que el AEO puede ser utilizado en cualquier matriz alimentaria que sufra deterioro fúngico, siendo uno de los frutos susceptibles a esta infección es el tomate.

Los frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) son ampliamente consumidos frescos o procesados (Benakmoum et al., 2008). El tomate contiene biomoléculas como licopeno, ácido ascórbico, flavonoides y vitamina E (Demirbas, 2010). Además, presenta propiedades que ayudan a la salud humana, y por lo tanto si se le agrega un aditivo con más actividad antioxidante se podría aumentar tales propiedades. A pesar de esto, los tomates son susceptibles a la contaminación por hongos como son los del género *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, y *Rhizopus* (Cardillo et al., 2009). Como solución a esta problemática se han usado antifúngicos sintéticos, sin embargo, su uso se ha relacionado con problemas ambientales y a la salud

de los consumidores (de Azeredo et al., 2011). Es por esto, que existe un creciente interés por la utilización de aditivos de origen natural.

Una manera de aplicar conservadores naturales en la poscosecha de frutas es el uso de recubrimientos comestibles, los cuales son capas delgadas que cubren a los alimentos (Falguera et al., 2011). Éstos son capaces de controlar la humedad, gases y migración de lípidos (Campos et al., 2011) y se pueden formular a partir de lípidos, proteínas o polisacáridos. La pectina es un polisacárido hidrosoluble utilizado para la formación de recubrimientos comestibles (Moalemiyan et al., 2012). Ésta ha sido usada para controlar la atmósfera interna de los frutos y retardar la senescencia, debido a que provee una barrera parcial a la humedad, O₂ y CO₂ (Medeiros et al., 2012). Adicionalmente, es posible agregar AEs durante la formulación de los recubrimientos. Por lo anterior, en este trabajo se plantea la adición de AEO en recubrimientos de pectina para ofrecer protección antifúngica, enriquecer el potencial antioxidante y otorgar un sabor agradable a frutos de tomate.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

Importancia de los Frutos de Tomate

Los tomates (*S. lycopersicum* L.) son ampliamente consumidos crudos o procesados y pueden proveer una proporción significativa del total de antioxidantes en la dieta (Benakmoum et al., 2008). El potencial antioxidante del tomate es debido a la presencia de una mezcla de biomoléculas como licopeno, ácido ascórbico, fenoles y vitamina E (Kaur et al., 2004). Sin embargo, estos son susceptibles al deterioro microbiano durante el almacenamiento. Tal contaminación puede ocurrir en la precosecha con el agua de irrigación, y en poscosecha debido al mal manejo durante su colecta, lavado, procesamiento mínimo, distribución, y en la preparación de alimentos (Cardillo et al., 2009).

Para la industria del tomate en México, la pudrición negra producida por *Alternaria alternata*, se ha convertido en la enfermedad más importante de los tomates (Sánchez-Domínguez et al., 2011). Este patógeno puede producir metabolitos en los frutos de tomate y pueden ser un riesgo a la salud humana (Pose et al., 2009). Además, cuando la incidencia de *A. alternata* es superior al 8%, los productores reciben descuentos en la cosecha o es rechazada por la industria, trayendo como consecuencia pérdidas significativas (Félix-Gastelum y Gálvez-Figueroa, 2002). Es por esto, que se buscan tecnologías que controlen el desarrollo del deterioro en este fruto (Tzortzakis, 2010). Una solución ha sido el uso de químicos sintéticos, sin embargo, han surgido nuevas cepas de patógenos resistentes a estos productos y además su uso se ha relacionado con posibles enfermedades carcinogénicas (Feng y Zheng, 2007).

Por lo anterior, se han buscado otras alternativas para combatir la problemática en estos frutos.

Recubrimientos Comestibles

Los recubrimientos comestibles (RC) son capas delgadas que cubren a los alimentos (Falguera et al., 2011). Estos pueden formar una microatmósfera alrededor del producto, la cual sirve como barrera para el O₂ y CO₂, vapor de agua y compuestos aromáticos, disminuyendo así la respiración del fruto y la pérdida de agua (Davila-Avina et al., 2010). Los RCs son formulados a partir de proteína, lípidos o polisacáridos, como carboximetilcelulosa, quitosano o pectina (Falguera et al., 2011).

Las pectinas son usadas principalmente en alimentos por su propiedad gelificante, la cual es influenciada por su grado de esterificación. En estudios que se realizaron con mangos aplicando RCs de pectina, se han reportado valores bajos de permeabilidad de oxígeno (de S. Medeiros et al., 2012). Además, a los RCs se les pueden incorporar agentes antimicrobianos naturales, liberándolos a la superficie de los alimentos, donde inicia el deterioro por el crecimiento microbiano (Bierhalz et al., 2012).

Aceite Esencial de Orégano: Usos Culinarios y Propiedades Bioactivas

El orégano ha sido cultivado desde la antigüedad, gracias a sus propiedades culinarias y terapéuticas (Tibaldi et al., 2011). Es originario del mediterráneo y Euroasia. Los primeros registros de *Origanum* datan de 1600-1200 A. C., cuando imágenes de la planta fueron inscritas en tablas por los Hititas de Asia menor/Siria (America, 2005). Existen principalmente cuatro grupos de orégano que son usados con propósitos culinarios: el griego (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*), el español (*Coridohymus capitatus*), el turco (*Origanum onites* L.), y el mexicano (*Lippia graveolens* K.) (Arcila-Lozano et al.,

2004). Después de la segunda guerra mundial, el resto del mundo descubrió el orégano, gracias a la expansión del consumo de pizza. Hoy en día, el orégano es muy conocido en todo el mundo y se utiliza sobretodo en verduras cocidas, carne, pizza y como ingrediente en polvo de chile (Bansleben et al., 2010).

Actualmente existen diferentes tipos de orégano, éstos pertenecen a la familia *Lamiaceae* (Labiatae) que incluyen alrededor de 260 géneros y 7000 especies distribuidas ampliamente en todo el mundo (Cosge et al., 2009). El género *Origanum* es una de las plantas más importantes desde el punto de vista económico de ésta familia y la que más se ha reportado es *O. vulgare*, la cual es encontrada principalmente en la costa del Mediterráneo y Eurasia. Además, está el orégano sudamericano y el mexicano que pertenecen al género *Lippia* (*L. graveolens*) (Vernin et al., 2001, Avila-Sosa et al., 2010, Mechergui et al., 2010). En México, se registra una producción anual de hoja seca de *L. graveolens* de 700 ton, de ellas 90% se comercializaron en el mercado de exportación (SEMARNAT, 2010). Su alta demanda se debe al contenido y calidad de aceite esencial en la hoja, al que se le ha dado numerosos usos en la industria alimentaria (Flores Hernández et al., 2012).

Además de su uso culinario y de las propiedades antimicrobianas (Busatta et al., 2008) y antioxidantes (Fasseas et al., 2008), el AEO posee otros beneficios. Por ejemplo, existen estudios que han demostrado que el orégano actúa como antiinflamatorio en el tratamiento para colitis en ratones, disminuyendo los niveles de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6, GM-CSF y TNF α (Bukovsk et al., 2007). Además, estabiliza la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (Teissedre y Waterhouse, 2000). De manera similar, el AEO ha mostrado ser efectivo en la prevención de desórdenes neurodegenerativos (Mastelic et al., 2008), y algunos de sus componentes (e.g., carvacrol y timol) han demostrado tener actividad antiproliferativa en las células tumorales de HeLa (Jerković et al., 2001) y efectos benéficos como antioxidante en los cerebros de rata (Youdim y Deans, 2000). Estas propiedades bioactivas que posee el AEO se deben a su composición química.

Componentes Químicos Presentes en el Aceite Esencial de Orégano

La composición de AEs de la misma especie depende principalmente de la temporada de cosecha y la zona geográfica (Arana-Sánchez et al., 2010). Los principales componentes del AE de *Lippia palmeri* S. Wats de Álamos y Puerto del Orégano (Sonora, México) fueron *p*-cimeno (22.37 y 14.25%), timol (21.39 y 15.11%), γ -terpineno (6.69 y 4.23%), iso-aromandreno (16.7 y 0.62%), respectivamente (Ortega-Nieblas et al., 2011). Los AEs de *O. vulgare* L. ssp. *glandulosum* (Desf.) letswaart colectados de tres localidades del norte de Túnez (Nefza, Bargou y Krib) presentaron como componentes principales: *p*-cimeno (36, 40 y 46%), timol (32, 39 y 18%), γ -terpineno (24, 12 y 16%), y carvacrol (2, 2 y 15%), respectivamente (Mechergui et al., 2010). Los AEs de *O. applii* (criollo) y *O. majoricum* (mendocino), de La Consulta, Mendoza, Argentina, mostraron el contenido de timol (33.8 y 12.9%) y carvacrol (ambos <0.1 %) (Amadio et al., 2011). Los dos componentes mayoritarios de *L. graveolens* de El Sauce, La Unión, El Salvador, colectado a mediados de Noviembre y al final de Diciembre fueron carvacrol (71 y 34.6%) y timol (5–7%), respectivamente (Vernin et al., 2001).

A pesar de que los compuestos más reportados son timol, carvacrol y *p*-cimeno, éste comportamiento no es el mismo para todos los géneros y especies. En un estudio realizado con *O. vulgare* ssp. *hirtum*, se obtuvieron carvacrol (80.15%), timol (4.82%) y *p*-cimeno (5.18%) como principales componentes (Govaris et al., 2010). En otro trabajo realizado por Santoro et al. (2007), empleando *O. vulgare* L. se obtuvieron 3-ciclohen-1-ol (22.61%), α -terpineol (18.56%) γ -terpineno (16.57) y *p*-cimeno (14.98%) como principales compuestos. En el análisis realizado al AE de *O. saccatum*, se determinaron como principales componentes: *p*-cimeno (82.8%), γ -terpineno (6.2%), *p*-cimeno-8-ol (1.5%), y carvacrol (1.2%). En un estudio realizado con *P. longiflora* se obtuvo como principales compuestos el carvacrol (18.36 %) y *p*-cimeno (14.09 %) (Rivero-Cruz et al., 2011). Se midió la composición de *L. graveolens*,

que fue: carvacrol (44.8 %), timol (7.4 %) y *p*-cimeno (21.8 %) (Salgueiro et al., 2003).

Por otro lado, la composición de orégano turco (*O. onites* L.) fue analizado en hojas cosechadas durante los meses de Junio a Septiembre. El rendimiento máximo del AEO apareció a la mitad de Julio y los principales componentes fueron carvacrol, timol, γ -terpineno, *p*-cimeno, α -terpineno y α -pineno; el contenido de carvacrol fue el más alto en la cosecha de Julio (Özcan y Chalchat, 2009). El contenido de carvacrol en AE de *O. onites* varió mensualmente (47.41-73.65%) y los valores más altos fueron obtenidos en el periodo de floración de Mayo (Yaldiz et al., 2005). De tal manera, que la temporada de cosecha y la localidad geográfica afectan la composición cuantitativa de AEO.

AEO como un Aditivo Antioxidante en Alimentos

Los AEs son mezclas complejas de varios componentes, donde la actividad de los principales componentes es modulada por los minoritarios (Bakkali et al., 2008). Sin embargo, el efecto antioxidante de AEO es atribuido a sus componentes mayoritarios, carvacrol y timol, existen varios mecanismos posibles: actividad de secuestro de radicales libres, actividad queladora de metales, y/o capacidad neutralizadora del oxígeno singulete (Shan et al., 2005). Los antioxidantes mayoritarios que donan hidrógenos son compuestos fenólicos monohidroxilo o polihidroxilo con varias sustituciones en el anillo aromático. Cualquier compuesto cuyo potencial de reducción es menor que el del radical libre, puede donar el hidrógeno al radical, a menos de que la reacción sea cinéticamente desfavorable (Choe y Min, 2006).

La actividad antioxidante de AEO difiere de acuerdo a las localidades y la temporada de cosecha. AE de *O. vulgare* L. ssp. *glandulosum* colectado de tres localidades del norte de Túnez (Krib, Bargou y Nefza) dio un concentración inhibitoria (IC₅₀) del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) desde un rango

de 59-80 mg/L; y el contenido de fenoles, entre 9.37-17.70 mg equivalente de ácido gálico/g (Mechergui et al., 2010). El contenido de fenoles de los extractos de *L. graveolens* de diferentes áreas en México (Guanajuato, Puebla y Querétaro) tuvieron valores entre 211.8-270.2 mg/g, en flavonoides 136.1-200.1 mg/g, y la capacidad antioxidante expresada como equivalentes de Trolox (TEAC) fue similar a los valores de ácido gálico (Martínez-Rocha et al., 2008). AE de *O. onites* turco tuvo la mayor capacidad antioxidante en Junio (31.02 mg Equivalente de ácido ascórbico/g y 116.74 mg/L DPPH IC₅₀) y la menor en Septiembre (28.96 mg EAA/g y 123.75 mg/L) (Ozkan et al., 2010).

Las propiedades antioxidantes del orégano y sus principales componentes han tenido un efecto como retardador en el proceso de la peroxidación de lípidos en alimentos ricos en grasas (Lagouri et al., 2010). Los rangos de incremento de los valores de peróxido y dienos conjugados en aceite de semillas de algodón, durante el freído de papas fritas, fue disminuido al agregar orégano (2 g/L) (Houhoula et al., 2004). Por otro lado, películas basadas en proteínas de leche conteniendo 1 % (p/v) de orégano fueron aplicadas en rebanadas de músculo de res, resultando como estabilizador en la oxidación lipídica (Oussalah et al., 2004). De la misma manera, cacahuates salados fritos con AEO 20 g/Kg y aceite de olivo mostraron mayor estabilidad oxidativa durante el almacenamiento (Olmedo et al., 2009).

La adición de AEO en alimentos para animales de consumo humano otorga estabilidad oxidativa y alarga la vida de anaquel de huevos, carne de res y pavo (Botsoglou et al., 2003, Franz et al., 2010). De manera específica, la adición de orégano (5-10%) y hojas de zanahoria (5-10%) a la formulación de pastas, mejoró los parámetros nutricionales y químicos, incrementando el contenido de ácidos grasos, entre ellos los omega-3, así también como las propiedades antioxidantes (Boroski et al., 2011). Además, la aplicación de carvacrol y *p*-cimeno (200 mg/L, respectivamente) incrementaron los compuestos antioxidantes en arándanos "Duke", reduciendo su deterioro (Wang et al., 2008). De igual forma, arrayanes chinos fueron tratados con carvacrol (1 µL/L), disminuyendo el deterioro del fruto y aumentando el contenido de

compuestos fenólicos, antocianinas, y flavonoides (Jin et al., 2012). Por otra parte, la adición de orégano y salvia (10% v/v) a carne molida de res, mantiene los valores del glutatión inducido por H₂O₂ (Ryan et al., 2009). Esto es importante, debido a que el glutatión es un antioxidante, que ofrece protección contra el estrés oxidativo a las células de los organismos vivos (Pompella et al., 2003).

Considerando las propiedades bioactivas del AEO, su adición a matrices alimentarias puede potenciar su efecto antioxidante y traer con ello un beneficio a la salud humana. Sin embargo, hacen falta estudios *in vivo* de los alimentados adicionados con AEO para comprobar su efectividad.

AEO como un Aditivo Antimicrobiano en Alimentos

Al igual que en la actividad antioxidante, el conjunto de componentes del AE proporciona el efecto antimicrobiano. Sin embargo, carvacrol y timol son los componentes mayoritarios a los cuales se les atribuye principalmente la actividad antimicrobiana. En el caso de bacterias, la membrana es un importante objetivo para los componentes monoterpenoides fenólicos del AE, los cuales logran interferir en la bicapa lipídica de la membrana (Gumus et al., 2010), **Figura 1**. Carvacrol y timol son responsables de desintegrar la membrana externa de las bacterias gram negativas, liberando los componentes lipopolisacáridos, y por lo tanto incrementa la permeabilidad de la adenosina trifosfato en la membrana citoplasmática, y consecuentemente cambia la permeabilidad pasiva de la célula (Guarda et al., 2011). De igual forma, *p*-cimeno es un compuesto hidrofóbico que provoca daño en la membrana citoplasmática comparada (Silva y Fernandes, 2010). Generalmente, los AEs son más activos contra bacterias gram positivas que contra gram negativas. Algunos autores, sugieren que la membrana externa que rodea la pared celular de las bacterias gram negativas, puede restringir la difusión de los compuestos hidrofóbicos a través de su cubierta de lipopolisacáridos y las funciones vitales

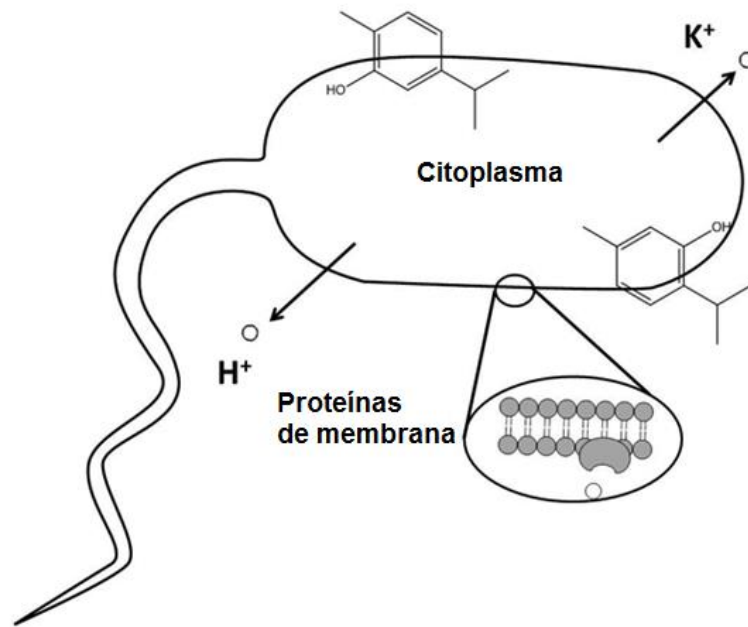


Figura 1. Mecanismo antibacteriano de carvacrol y timol desintegrando la membrana externa, liberando el contenido citoplasmático, y consecuentemente cambiando la permeabilidad pasiva de la célula.

de la célula (Gutierrez et al., 2009). Tal es el caso, en *Proteus vulgaris* y *Salmonella typhimurium* las cuales mostraron mayor sensibilidad con respecto a otras bacterias al aplicar AE de *Origanum acutidens* (Cosge et al., 2009).

Su actividad antifúngica, es atribuida principalmente a los monoterpenos aromáticos, carvacrol y timol (Kordali et al., 2008). Aunque existen varios estudios donde se ha visto el efecto del AEO como antifúngico, su mecanismo no es bien conocido (Avila-Sosa et al., 2010, Pozzatti et al., 2010, Portillo-Ruiz et al., 2012). Sin embargo, existen estudios que proponen que sus principales compuestos monoterpenos aromáticos, gracias a la presencia de un anillo aromático con un grupo hidroxilo pueden formar puentes de hidrógeno con los sitios activos de las enzimas (Daferera et al., 2000). Entre las enzimas que pueden inhibir son pectina metil esterasa, celulasas, quitina sintetasa, α y β gluconasas (Marei et al., 2012, Sokovic et al., 2010), **Figura 2**. Además pueden interferir en la biosíntesis de fosfolípidos y esteroides (Lucini et al., 2006, Ahmad et al., 2011). Todo esto trae como posible consecuencia daño a la membrana, y por ende afecta el pH, homeostasis, equilibrio de iones inorgánicos, provocando así la muerte celular (Kocic-Tanackov et al., 2012).

Existen estudios que sustentan el sinergismo antimicrobiano entre los componentes del AEO. La combinación de carvacrol (0 a 0.5 mM) y cimeno (0 a 0.5 mM) causa una mayor desestabilización en la membrana que los compuestos individuales (Ultee et al., 2002). Tal efecto se atribuye, al carácter anfipático de timol y carvacrol que regula sus interacciones con membranas y por lo tanto la actividad antimicrobiana (Cristani et al., 2007). De manera específica, el carvacrol puede ser acumulado en la membrana celular y su habilidad para formar puentes de hidrógeno y liberar protones para inducir las modificaciones conformacionales de las membranas dando como resultado la muerte microbiana (Ben Arfa et al., 2006). Esto se mostró en un estudio realizado en *Pseudomonas aeruginosa*, donde el 96% de la inhibición provocado por AEO se atribuyó al efecto aditivo de timol y carvacrol con el remanente de 4% de los otros componentes (Lambert et al., 2001).

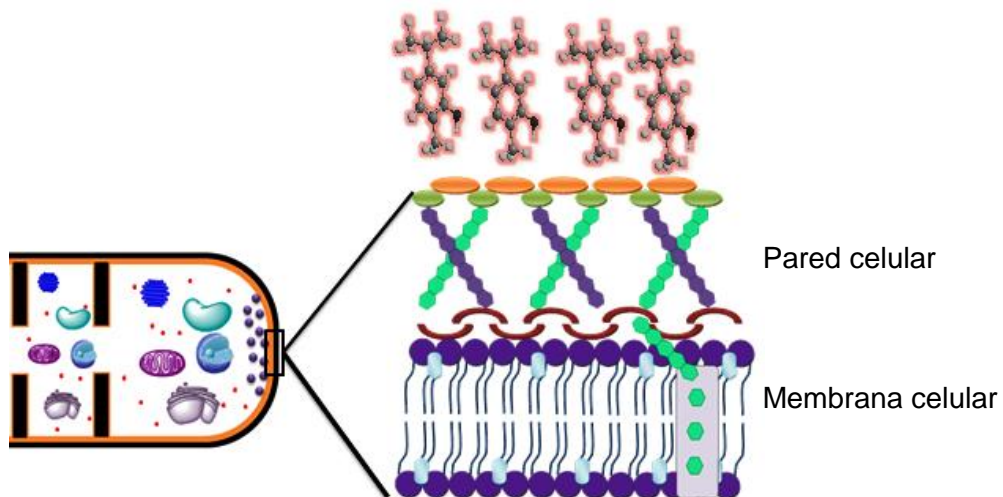


Figura 2. Mecanismo antifúngico de carvacrol y timol, los cuales se unen a enzimas claves de pared celular y membrana celular, mediante puentes de hidrógeno con sus sitios activos. Lo que trae como consecuencia cambios en la adhesión celular, contenido de iones, síntesis de ergosterol, provocando todo esto la muerte celular.

El AEO ha mostrado un mayor efecto antifúngico que antibacteriano. Esto se observó para *O. glandulosum* que mostró un mayor efecto antifúngico (*Candida albicans* 444, *C. albicans* 9036, *Fusarium oxysporum*, *Cladosporium herbarum*, *Botrytis cinerea* y *Aspergillus flavus*) que antibacteriano (Bendahou et al., 2008). De igual forma, extractos de *L. graveolens* fueron utilizados contra *Rhizopus stolonifer*, *Colletotricum gloeosporoides* y *Penicillium digitatum*, exhibiendo un 100% de inhibición a las concentraciones de 2000-5000 µL/L (Jasso de Rodriguez et al., 2011). Asimismo, AEO (*L. graveolens*) tuvo un concentración mínima inhibitoria ≤ 1600 mg/mL para *Candida* spp. (Pozzatti et al., 2008). Lo anterior resalta el potencial antifúngico del AEO como una propiedad funcional de interés.

Varias técnicas han sido exploradas para facilitar la adición de AEO como un aditivo antimicrobiano para alimentos. Los resultados antimicrobianos de películas de quitosano adicionadas con AE de anís, cilantro, albahaca y orégano (1%, 2%, 3%, y 4%) contra *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7 fueron similares cuando fueron aplicados solos o incorporados a las películas. Sin embargo, la intensidad de la eficiencia antimicrobiana fue en el siguiente orden: orégano >> cilantro > albahaca > anís (Zivanovic et al., 2005). Por otro lado, la microencapsulación de AE de *L. graveolens* usando ciclodextrinas, aumento la capacidad antibacteriana, disminuyendo la concentración bactericida (0.05%, 0.10% y 0.20% p/v) del aceite contra *P. aeruginosa* (Arana-Sánchez et al., 2010). De manera similar, la actividad antimicrobiana de AEO (2% y 4%), hidrocinaldehído (2% y 4%), cinamaldehído (2% y 4%), timol (2% y 4%), y carvacrol (2% y 4%) incorporado a propileno fue reportado como efectivo contra varias bacterias gram negativas (*E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *P. aeruginosa*, y *S. choleraesuis*), bacterias gram positivas (*L. monocytogenes*, *S. aureus*, *B. cereus*, y *Enterococcus faecalis*), levaduras (*C. albicans*, *Debaryomyces hansenii*, *Zygosaccharomyces rouxii*), y hongos filamentosos (*Botrytis cinerea*, *A. flavus*, *Eurotium repens*, *Penicillium roqueforti*, *P. islandicum*, *P. commune*, *P. nalgiovensis*) (Gutierrez et al., 2009).

El AEO y sus principales compuestos han sido aplicados también como antimicrobianos en frutos y vegetales. Frutos de manzana fueron tratados con AEO (1% y 10%), lo cual redujo el crecimiento de *B. cinerea* y *Penicillium expansum* (Lopez-Reyes et al., 2010). De manera similar, AE de *O. vulgare* L. y *Rosmarinus officinalis* L. (80 a 0.003 µL/mL) inhibió la microflora bacteriana asociada con los vegetales mínimamente procesados (de Azeredo et al., 2011). Adicionalmente, nectarinas tratadas con timol (1 mL/L) mostraron un menor índice de deterioro causado por *R. stolonifer*, *B. cinerea* y *P. digitatum* (Navarro et al., 2011). Concordando con lo anterior, carvacrol (0.05, 0.2, 0.5 y 1.0 mL/L) fue probado en uva de mesa inhibiendo el desarrollo de *B. cinerea* (Martinez-Romero et al., 2007). Mientras que carvacrol y timol (10, 25, 50, 100, 250 y 500 µL/L de carvacrol, timol o la mezcla (1:1) de carvacrol+timol) aplicados en limón, mostraron un menor deterioro fúngico inducido por *P. digitatum* y *P. italicum* (Perez-Alfonso et al., 2012). Por lo tanto, el AEO o sus principales componentes pueden ser utilizados como aditivo antimicrobiano para diferentes frutos o vegetales.

Propiedades Sabor-Aroma del Orégano como Aditivo Alimentario

El arte tradicional del sazón de alimentos, consiste generalmente en la adición de olores y sabores, que pueden ser frescos, herbales y picantes de las hierbas y especias, de aquí que surja la idea, de que el AEO podría ser usado como saborizante (Ayala-Zavala et al., 2009). Existen diferentes compuestos que proporcionan las características del sabor y aroma, **(Cuadro 1)**, estas pueden variar dependiendo la composición que presente AEO.

Las interacciones sensoriales proporcionan datos sobre cómo los ingredientes afectan las propiedades del alimento y por lo tanto indican cuando una buena combinación de sabores se ha formulado (Aaslyng y Frost, 2010). Con esto en mente, es interesante resaltar los posibles efectos que el AEO

Cuadro 1. Notas de aroma/sabor de componentes que otorgan el sabor característico de AEO

<i>Compuesto</i>	<i>Notas de aroma/Sabor</i>
Carvacrol	Herbal
Timol	Herbal
p-cimeno	Herbal
α -tujeno	Herbal, madera, verde
Mirceno	Balsámico, especias

Fuente: (Acree y Arn, 2004, Ayala-Zavala et al., 2009)

puede tener como aditivo en los alimentos. Estudios realizados con filetes de besugo tratados con sal, empacados con atmósferas modificadas y AEO (0.8%) produjeron un sabor distinto pero agradable en los 33 días de almacenamiento (Goulas y Kontominas, 2007). De manera similar, salchichas adicionadas con AEO (0.345, 0.69, 1.725, 3.45 mg/g) mostraron que la adición del aceite puede ser una vía prometedora para aumentar la aceptabilidad del producto, además que daba un efecto bacteriostático (Bussatta et al., 2007). Como otra alternativa se evaluó el uso de empaque al vacío combinado con AEO (0.2% y 0.4%) en pulpo fresco del Mediterráneo, en relación con el efecto sensorial de AEO dio un olor característico, conveniente y agradable para las muestras tratadas hasta el día 17 y 23 días de almacenamiento (Atrea et al., 2009). De acuerdo a Drenowski et al. (2000), mejorar la funcionalidad de un alimento genera un dilema para los diseñadores de alimentos funcionales debido a sus posibles reacciones adversas a los sabores resultantes.

Haciendo un análisis general de la información presentada, el uso apropiado del AEO como aditivo alimentario debe contemplar sus propiedades sensoriales, antimicrobianas y antioxidantes. Por lo que el sabor del alimento a tratar debe ser relacionado con el del orégano para poder reflejar las ventajas antioxidantes y antimicrobianas del aceite sobre el alimento. Tenemos que considerar que, nuevos sabores son siempre bien recibidos por consumidores modernos, especialmente cuando las fuentes son de origen natural como el AEO.

HIPÓTESIS

La adición de AEO en recubrimientos de pectina, reduce el deterioro fúngico, aumenta la capacidad antioxidante y otorga un sabor aceptable a frutos de tomate.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto de la aplicación de recubrimientos de pectina adicionados con aceite esencial de orégano, sobre el deterioro fúngico, la capacidad antioxidante y aceptabilidad sensorial de frutos de tomate.

Objetivos Específicos

- Formular y caracterizar recubrimientos comestibles antifúngicos y antioxidantes, a base de pectina y AEO.
- Evaluar el efecto de la aplicación de los recubrimientos comestibles sobre el deterioro fúngico, capacidad antioxidante y aceptabilidad sensorial de frutos de tomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Identificación de Compuestos Volátiles de AEO por CG-MS

El AEO (*L. graveolens*) fue comprado a la compañía “Ore aceite de orégano” (Saucillo, Chihuahua, México). La identificación de perfil de volátiles del AEO se realizó utilizando un cromatógrafo Varian CG-3400Cx, equipado con un detector selectivo de masas SATURN 2100 (Varian, México). Se inyectó manualmente en el modo de split-less 1 μ L del AEO diluido en hexano a una concentración de 500 μ L/mL. Se utilizó una columna capilar DB-5 (30m X 0.25 mm) con una rampa de temperatura de 65 a 290 °C a una tasa de 10 °C/min y se mantuvo 3 min a la temperatura final. Como gas acarreador se usó Helio con un flujo de 1 mL/min. Para la detección de cromatografía de gases-masas (CG-MS) se utilizó un sistema de ionización de 70 eV. Las temperaturas del inyector y de la línea de transferencia MS fueron de 100 a 290 °C, respectivamente. La identificación de los constituyentes se basó en la comparación de éstos, contra los encontrados en la base de datos del sistema CG-MS NIST 98 (National Institute of Standard and Technology, Maryland, EUA).

Elaboración de Recubrimientos de Pectina con AEO

Se agregaron 3 g de pectina de piel de cítricos ($\geq 74\%$ de ácido galacturónico y $\geq 6.7\%$ grupos metilos, Sigma, San Luis, MO, USA), 0.99 mL de glicerol y la concentración correspondiente de AEO (0, 15.7, 25.9 y 36.1 mg/mL) y se disolvió en 100 mL de agua destilada, siendo homogeneizado toda la mezcla por 15 min. Se colocaron 20 mL de las soluciones en cajas petri y se colocaron en la estufa a 60 °C por 24 h. Después se desprendieron en forma de película y se almacenaron en desecadores, para después realizar los análisis *in vitro* de antioxidante (Ayala-Zavala et al., 2013).

Actividad Antifúngica *In Vitro* del AEO

El potencial antifúngico del AEO fue probado contra *A. alternata*. Se utilizó agar papa dextrosa (PDA), se le adicionó ácido tartárico y AEO (15.7, 25.9 y 36.1 mg/mL), posteriormente se hizo la inoculación por picadura de *A. alternata*. Las placas se incubaron durante 5 días a 28 °C. Los testigos consistieron en placas con agar sin adición del aceite, siendo inoculados solo con el hongo. Se midió el crecimiento micelial (cm²) por triplicado utilizando el software Image Tools y los resultados se expresaron como área micelial de *A. alternata*.

Actividad Antioxidante *In Vitro* de los Recubrimientos

Se midió la actividad antioxidante y el contenido de carvacrol de los recubrimientos formulados. Esta actividad fue evaluada en base al contenido de compuestos fenólicos, prueba de inhibición del radical DPPH y ABTS.

Contenido de Carvacrol en los Recubrimientos

Un gramo de cada muestra de recubrimiento fue triturado por el homogenizador (POLYTRON PT 1200C) en 30 mL de metanol (80%), después fue tratado en un baño con ultrasonido 30 min a 40 °C y centrifugado a 1200 x g por 15 min. El paso de extracción fue repetido tres veces más, los sobrenadantes fueron recolectados en papel Whatman #1 y el volumen fue aforado a 30 mL. Para el ensayo colorimétrico, se agregó 75 µL del reactivo Folin-Ciocalteu (1:10), 60 µL de 7.5% Na₂CO₃ y 15 µL del extracto del recubrimiento. Después fue incubado en la oscuridad por 30 min, y la absorbancia fue medida a 765 nm usando un lector de microplacas Fluostar OMEGA (BMG-Labtech, Chicago, IL, USA). Carvacrol fue usado como estándar y los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de carvacrol por gramo de recubrimiento.

Inhibición del Radical Estable DPPH

Se preparó el radical DPPH·, diluyendo 1.97 mg del DPPH· en 50 mL de metanol puro, y se ajustó a una absorbancia de 0.7, a una longitud de onda de 518 nm, en el lector de microplacas Fluostar OMEGA. La reacción se hizo al agregar 140 µL del radical ajustado y 10 µL de la muestra, por triplicado. Se dejó reposar 30 min en la oscuridad. Los resultados se expresaron en µmol Equivalentes Trolox (ET) por gramo de recubrimiento (Gonzalez-Aguilar et al., 2007).

Inhibición del Radical ABTS

Se pesó 19.3 mg de ABTS y fue disuelto en 5 mL de agua destilada. Además se agregó 37.8 mg de $K_2S_2O_8$ en 1 mL de agua destilada; 88 μ L de esta solución se adicionaron a la solución de 5 mL de ABTS. Esta mezcla se dejó reposar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 16 h. Después se agregó 0.5 mL de este radical en 35 mL de etanol puro, ajustándose a la absorbancia de 0.7 y se realizó la lectura a una longitud de onda de 754 nm. Posteriormente en una microplaca se añadieron 245 μ L del radical ajustado y 5 μ L de la muestra, por triplicado. Se dejó reposar en la oscuridad por 5 min y se hizo la lectura de las muestras a 754 nm. Los resultados se expresaron en μ mol ET por gramo de recubrimiento (Re et al., 1999).

Material Vegetal

Se seleccionaron frutos de tomate “Saladette” en el estado de maduración rosa (nivel de maduración 4 USDA) homogéneos en tamaño. Se lavaron con agua clorada (200 ppm) durante 2 min y se secaron a temperatura ambiente.

Caracterización de los Tomates

Los frutos utilizados fueron caracterizados mediante la determinación de sus características fisicoquímicas (pH, acidez titulable, sólidos solubles totales, firmeza y color) (**Cuadro 2**). Estas determinaciones, se hicieron para fijar las

Cuadro 2. Caracterización fisicoquímica de los frutos de tomate

Parámetro	Media ± Error estándar
Firmeza (N)	4.51 ± 0.18
Acidez titulable (g/L)	6.70 ± 0.59
Sólidos solubles totales (°Brix)	4.90 ± 0.03
pH	4.54 ± 0.09
Color	
Croma	17.97 ± 0.87
Luminosidad	45.45 ± 0.61
°Hue	79.45 ± 2.25

condiciones iniciales con las que se trabajaría, en caso de que fuera necesario la repetición del experimento.

Color

El color se evaluó usando el colorímetro MINOLTA RS-232C y se obtuvieron los parámetros de color L^* , a^* y b^* . Estos parámetros se transformaron en el parámetro Chroma (pureza o saturación del color) y el ángulo °Hue (matiz o tono del color) ($\tan^{-1} b^*/a^*$) que representan el color en un ángulo de 360° donde 0, 90, 180 y 270° representan colores rojo-púrpura, amarillo, azul-verde, y azul, respectivamente. Se realizaron 5 mediciones por triplicado.

Firmeza

Para la determinación de la firmeza se tomaron 5 frutos de tomate, los cuales fueron sometidos a compresión utilizando un disco plano de un texturómetro (Chatillon DMFM50). Los resultados se expresaron en Newtons. Se realizaron las mediciones por triplicado.

Sólidos Solubles Totales (SST)

Se obtuvo el jugo de los frutos de tomate a partir de 3 tomates y se hicieron 5 réplicas. El jugo fue utilizado para la determinación de SST por medio

de un refractómetro Atago PAL-1 (0-53%) expresando los resultados como % de SST.

Acidez Titulable y pH

Se pesaron 10 g de frutos de tomate por triplicado, y se trituraron en un homogenizador (POLYTRON PT 1200C) durante 60 seg, en 50 mL de agua destilada a un pH 7 y se filtró. La determinación del pH y acidez titulable se realizó directamente de los homogeneizados, tomando 50 mL del volumen total. Se valoraron con solución de NaOH 0.1N en un titulador automático METTLER modelo DL 21 tritator. Los resultados se expresaron como pH y g de ácido cítrico por litro de muestra.

Actividad Antioxidante de los Tomates Tratados con los Recubrimientos de Pectina + AEO

El contenido de fenoles totales y la inhibición de ABTS se midieron en extractos de los tomates tratados, la extracción y determinación de estos parámetros se realizó con la metodología descrita previamente para cuantificar el carvacrol y capacidad antioxidante en las películas. La concentración de fenoles totales fue calculada usando una curva estándar de equivalentes de ácido gálico. La inhibición del radical ABTS hecha con los extractos de los frutos, fueron expresados como $\mu\text{moles ET}$ por Kg de peso fresco.

Índice de Deterioro Fúngico en los Tomates Cubiertos

Primero los tomates fueron lavados en 200 ppm de cloro. La inoculación de los tomates, fue realizada por aspersion de una solución de esporas de *A.*

alternata (1×10^4 esporas). Después, a los tomates se les aplicaron con brocha 2 mL de los tratamientos de los recubrimientos formulados, se guardaron en cajas de poliestireno durante 12 días a 12.5 °C. Se evaluó el índice de deterioro fúngico de los tomates de manera subjetiva durante los días 0, 3, 6, 9 y 12. Los frutos de tomate que presentaron desarrollo micelial en la superficie se consideraron como deteriorados según el porcentaje del área infectada, utilizando la siguiente escala hedónica para evaluar el deterioro fúngico: 1=0%, 2= 25%, 3= 50%, 4= 75% y 5=100%. Los resultados se expresaron en base a la siguiente fórmula como índice de deterioro fúngico.

$$IDF = \frac{1n+2n+3n+4n}{N}$$

Donde: n= número de frutos de tomate que se encontraron en cada uno de los rangos establecidos en la escala hedónica, para un tiempo de análisis dado.

N= el número total de frutos de tomate examinados.

Análisis Sensorial de Olor y Sabor

Tomates tratados con los recubrimientos formulados y almacenados por 10 días a 12.5 °C, fueron utilizados para la evaluación sensorial de olor y sabor, mediante una prueba afectiva de consumidor. A partir de estos, se hicieron jugos utilizando un extractor de jugos (Moulinex) y a cada panelista (n=30) se le dio 10 mL de cada jugo en vasos de cristal. Se les mencionó que primero evaluaran el olor y después el sabor. Los formatos de evaluación incluyeron la escala hedónica siguiente: (0) desagrada extremadamente, (2.5) desagrada moderadamente, (5) ni agrada ni desagrada y (10) agrada extremadamente, para olor y sabor (Ayala-Zavala y González-Aguilar, 2010).

Análisis Estadístico

El diseño experimental para los bioensayos (análisis antifúngicos y antioxidantes) fue en bloques completos al azar. Los factores fueron los tratamientos y el tiempo (bloqueado); se utilizó un ANOVA de un modelo lineal general. Para el caso del análisis sensorial, el ensayo antifúngico y antioxidante *in vitro* se hizo un diseño completamente al azar; se realizó un ANOVA de una vía. Se hizo una comparación de medias por el método de Tukey-Kramer ($p < 0.05$). Todo esto se realizó en el software NCSS (2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etapa I: Formulación de Recubrimientos Comestibles Antifúngicos y Antioxidantes a Base de Pectina y AEO

Caracterización de los Compuestos Volátiles del AEO

Carvacrol fue el mayor componente de AEO (47.407%), **Figura 3**. Otros componentes prevaletentes en el aceite fueron: *p*-cimeno (26.440 %), timol (3.02%), cariofileno (1.333%), 4-terpinenol (1.131%), γ -terpineno (1.012%), eucaliptol (1.003%), 3-tert-butil-4-metoxi-fenol (1.114 %). El resto de los compuestos se encontraron en una concentración menor de 1 % (β -pineno, α -terpineno, linalilo antranilato, timol metil éter y α -cariofilleno). Estos resultados concuerdan, con los reportados en estudios previos utilizando AEO, donde encontraron como componentes principales carvacrol (44.8 %), timol (7.4 %) y *p*-cimeno (21.8%) (Salgueiro et al., 2003). Otro estudio realizado con *Lippia palmeri* S. Wats, encontró como componentes mayoritarios *p*-cimeno (22.37 %), timol (21.39 %) y carvacrol (8.76 %) (Ortega-Nieblas et al., 2011). A pesar de las variaciones que puedan existir entre los reportes de la composición de AEO, los componentes que son reportados consistentemente son el timol, carvacrol y *p*-cimeno. Dentro de estos, los que se reportan con capacidad anifúngica y antioxidante son el timol y carvacrol (Portillo-Ruiz et al., 2005, Avila-Ramos et al., 2012).

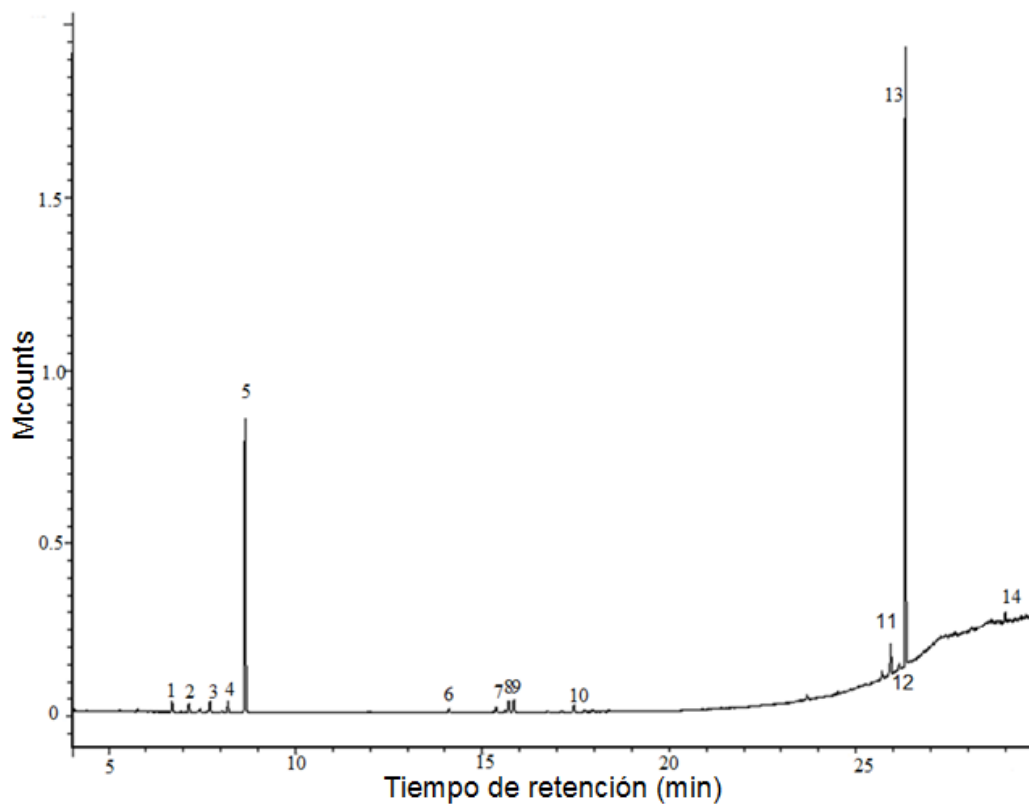


Figura 3. Perfil de compuestos volátiles de AEO por CG-MS: 1: β -pineno, 2: α -terpineno, 3: eucaliptol, 4: γ -terpineno, 5: *p*-cimeno, 6: linalilo antranilato, 7: timol metil éter, 8: 4-terpinenol, 9: cariofileno, 10: α -cariofileno, 11: timol, 12: o-tert-butilfenol, 13: carvacrol, 14: 3-tert-butil-4-metoxi fenol

Actividad antifúngica *in vitro* de AEO contra *A. alternata*

En la **Figura 4**, se presenta el efecto de la adición de AEO a PDA donde se inoculó *A. alternata*, los cuales fueron incubados durante cinco días a 28 °C, se utilizó como testigo PDA sin aceite. Con esto se pudo visualizar el probable comportamiento del AEO, que se presentaría en el ensayo *in vivo*. En las distintas concentraciones de AEO agregadas a PDA, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el desarrollo micelial. En ninguno de los tratamientos de AEO hubo desarrollo micelial de *A. alternata*. La actividad antifúngica del AEO, es atribuida principalmente a los monoterpenos aromáticos, carvacrol, timol y *p*-cimeno (Kordali et al., 2008). Como se mencionó anteriormente, su mecanismo no es bien conocido, aunque existen estudios que proponen que sus principales compuestos monoterpenos aromáticos, gracias a la presencia de un anillo aromático con un grupo hidroxilo, pueden formar puentes de hidrógeno con los sitios activos de las enzimas (Daferera et al., 2000). Además pueden interferir en la biosíntesis de fosfolípidos y esteroides (Lucini et al., 2006, Ahmad et al., 2011).

Datos no publicados, coinciden con el trabajo realizado con AE de canela, donde se inhibió el crecimiento de *A. alternata* hasta la concentración de 36.1 mg/mL. Esto se puede deber a que carvacrol, principal compuesto de AEO, tiene mayor actividad antimicrobiana que el principal componente de AE de canela, que es el eugenol (Michiels et al., 2007). Otro trabajo, en específico de *L. graveolens* inhibió el crecimiento de *Candida* spp. con concentraciones menores a 1600 mg/mL (Pozzatti et al., 2008). Aunque son mayores las concentraciones que las del AEO con que trabajamos, se corrobora el potencial que tiene *L. graveolens* contra los hongos.

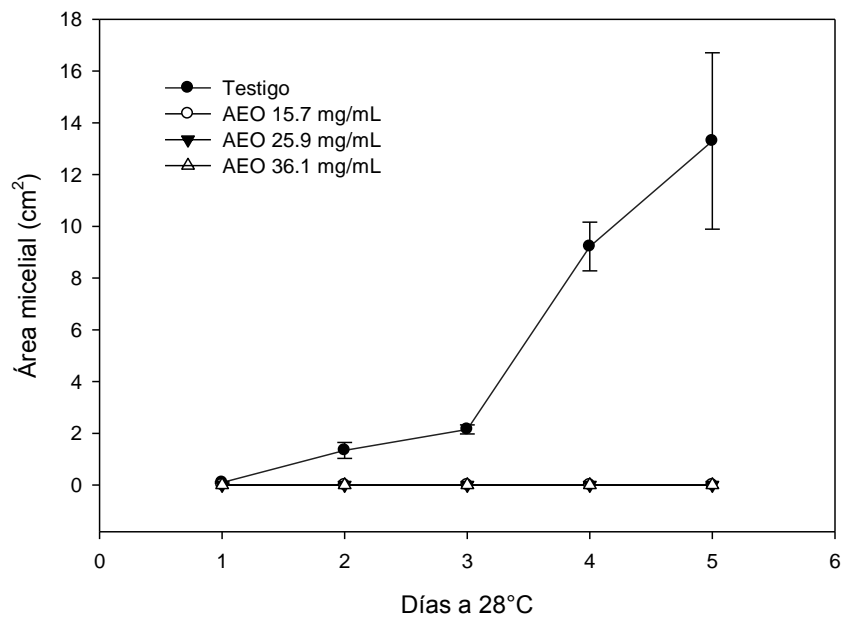


Figura 4. Efecto antifúngico *in vitro* de AEO contra *A. alternata*, incubada a 28 °C por 5 días. Media \pm Error estándar.

Contenido de Carvacrol y Capacidad Antioxidante

Se formularon recubrimientos de pectina adicionados con AEO (15.7, 25.9 y 36.1 mg/mL), y se utilizó como testigo el recubrimiento de pectina sin AEO. De esta manera, se pudo visualizar que el AEO es el factor que provocó el aumento en el contenido de carvacrol en los recubrimientos de pectina ($p < 0.05$). En la **Figura 5**, se observa que conforme se aumentó la concentración de AEO en los recubrimientos de pectina existió un incremento ($p < 0.05$) en la cantidad de carvacrol. El recubrimiento con la mayor concentración de AEO (36.1 mg/mL) presentó una concentración de 191.41 mg E Carvacrol/g de recubrimiento. Comparando la cantidad de carvacrol, entre la concentración mayor de AEO adicionado a los recubrimientos formulados y la concentración baja e intermedia, fue de 2.66 y 1.14 veces mayor, respectivamente. Debido a que los compuestos del AEO están relacionados con la capacidad antioxidante del aceite, se midió la actividad utilizando los ensayos antioxidantes DPPH y ABTS.

En la **Figura 6**, se observa la capacidad antioxidante de los recubrimientos de pectina adicionados con AEO, utilizando los ensayos DPPH y ABTS. En los recubrimientos formulados con diferentes concentraciones de AEO se encontraron diferencias ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante de ambos ensayos. El mismo efecto se observó en los dos ensayos, conforme se aumentó la concentración de AEO en los recubrimientos de pectina existió un incremento ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante. En el ensayo DPPH, el recubrimiento con la mayor concentración de AEO (36.1 mg/mL) tuvo la mayor actividad antioxidante de 52.04 $\mu\text{mol ET/g}$. Comparando la actividad antioxidante, entre la concentración mayor de AEO adicionado a los recubrimientos formulados y la concentración baja e intermedia, fue de 3.08 y 1.36 veces mayor, respectivamente. Para el caso del ensayo de inhibición del radical ABTS, los recubrimientos formulados con diferentes concentraciones de AEO tuvieron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante. Se observó que conforme se aumentó la concentración de AEO en los recubrimientos existió un

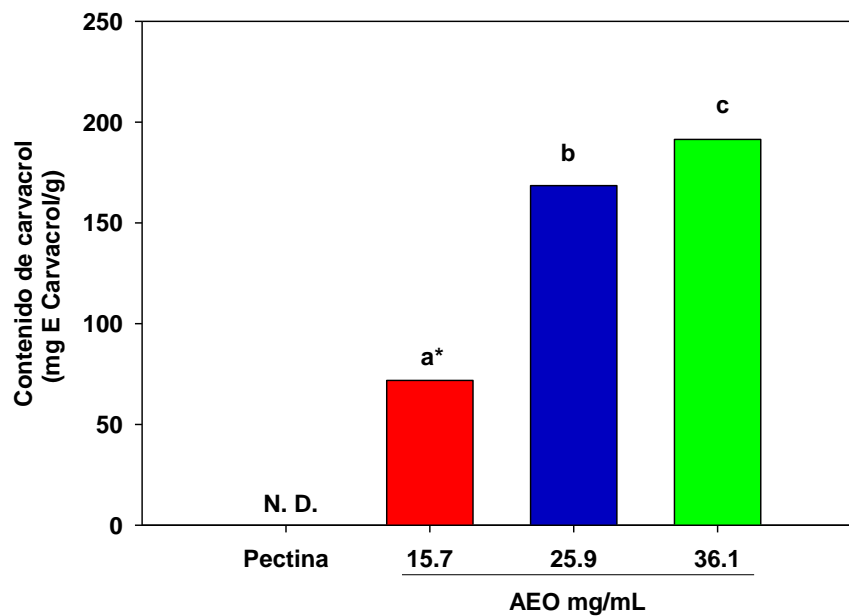


Figura 5. Contenido de carvacrol de los recubrimientos de pectina adicionados con AEO. *Diferente literal entre columnas indica diferencia ($p < 0.05$) entre las medias, $n=3$.

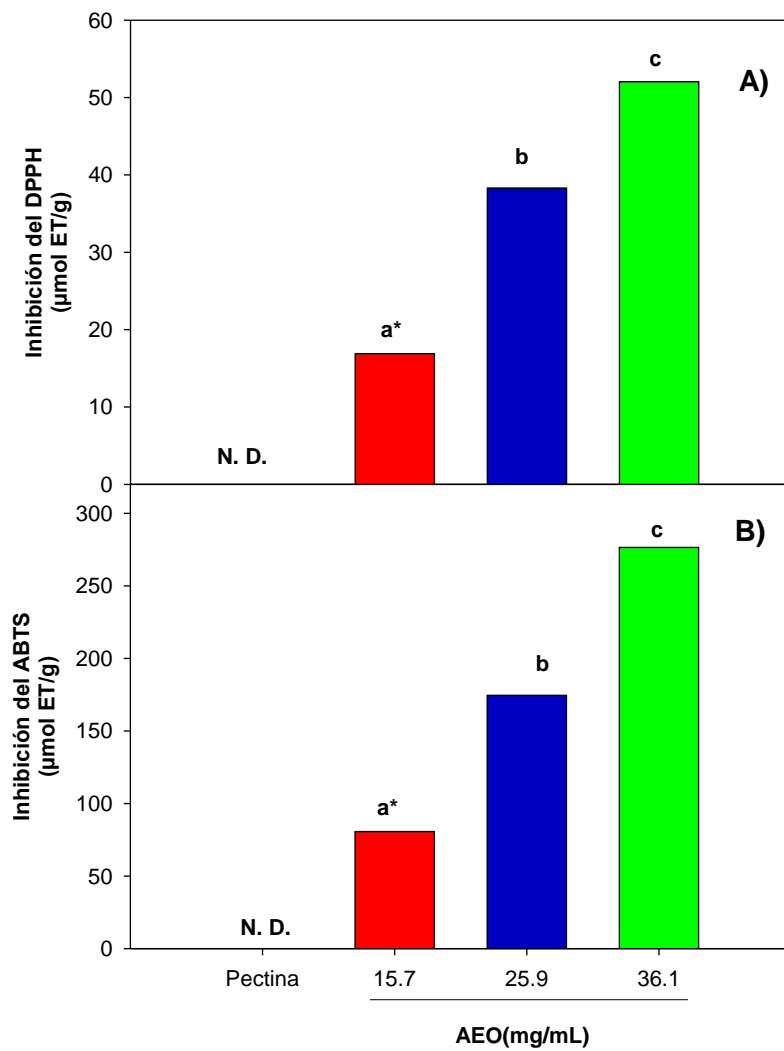


Figura 6. Capacidad antioxidante de los recubrimientos de pectina adicionados con AEO utilizando los ensayos del radical DPPH (A) y ABTS (B). *Diferente literal entre columnas indica diferencias ($p < 0.05$) entre las medias, $n=3$.

incremento ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante. La mayor actividad antioxidante fue la del recubrimiento con la mayor concentración de AEO (36.1 mg/mL) presentando una concentración de 276.5 $\mu\text{mol ET/g}$. Comparando la actividad antioxidante entre la concentración mayor de AEO adicionado a los recubrimientos formulados y la concentración baja e intermedia, fue de 3.43 y 1.58 veces mayor, respectivamente. Por lo tanto, el AEO es un aditivo antioxidante con potencial uso en matrices alimentarias.

El AEO contiene compuestos antioxidantes como el carvacrol y el timol, los cuales han sido reportado como secuestradores de radicales libres, de allí que retarden la oxidación lipídica (Tepe et al., 2007, Avila-Ramos et al., 2012). En un estudio realizado en salchichas, a las cuales se les adicionó películas de quitosano con AEO, se observó una disminución en el contenido de aldehídos durante su almacenamiento (Krkić et al., 2013). Además, en carne de pollo alimentados con orégano, provocó el retraso en la oxidación de grasas comparada con el testigo (Marcincak et al., 2008). Se agregó AEO a aceite de olivo, teniendo como resultado una prolongación de la vida de anaquel del producto, debido a que el AEO estabilizó la oxidación lipídica (Asensio et al., 2012). A su vez, los compuestos fenólicos, guardan una correlación con la actividad antioxidante (Kanerla y Chanda, 2013). Las correlaciones que se obtuvieron entre el contenido de carvacrol y la actividad antioxidante por los ensayos DPPH y ABTS fueron: $R^2 = 0.97$ y 0.96 ($p < 0.05$), respectivamente. El mecanismo antioxidante de los compuestos fenólicos del AEO, consisten en poder donar átomos de hidrógeno a radicales libre y convertirlos en productos estables (Choe y Min, 2006).

Existen estudios que han reportado comportamientos similares, conforme se aumenta la concentración de aceite en el recubrimiento, aumenta el contenido de compuestos fenólicos, y éste a su vez la actividad antioxidante. En un estudio donde se utilizaron recubrimientos de quitosano adicionados con AE de *Zataria multiflora* Boiss, el contenido de compuestos fenólicos fue de 6 mg/g a la concentración de 10 mg/mL (Moradi et al., 2012). Otro estudio realizado con

recubrimientos de k-carragenina adicionado AE de ajedrea, se observó un aumento en el contenido de compuestos fenólicos de hasta 20.56 mg/g a en la concentración más alta de AE(3% v/v) (Shojaee-Aliabadi et al., 2013). Por otro lado, quitosano incorporado con aceite de tomillo, se observó un aumento en fenoles totales de hasta 28.55 mg/g a la concentración mayor de AE adicionado al recubrimiento (2%) (Ruiz-Navajas et al., 2013). Haciendo las correspondientes conversiones, se encontró que los recubrimientos de pectina-AEO 15.7 mg/mL, tuvieron mayor cantidad de compuestos fenólicos (72.56 mg/g). Esto se puede deber, a que el AEO tiene mayor capacidad antioxidante contra otras especias como es ajedrea y tomillo (Alinkina et al., 2013). Ya que el AEO contiene en mayor proporción compuestos fenólicos con capacidad antioxidante. De tal manera, se esperó que la aplicación de los recubrimientos de pectina adicionados con AEO sobre tomate, provocara un incremento en la cantidad de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en los frutos.

Etapas II: Evaluar el Efecto de la Aplicación de los Recubrimientos Comestibles Sobre el Deterioro Fúngico, Capacidad Antioxidante y Aceptabilidad Sensorial de Frutos de Tomate

Efecto antifúngico en frutos de tomates

Diez frutos de tomate por tres sublotos por cada tratamiento fueron inoculados con *A. alternata*, a los cuales se les aplicó los recubrimientos formulados, estos fueron almacenados durante 12 días a 12.5 °C. Se observaron diferencias ($p < 0.05$) en los tratamientos sobre el crecimiento micelial de *A. alternata*, **Figura 7**. Los tratamientos testigo, pectina y pectina-AEO 15.7 mg/mL fueron los que presentaron mayor crecimiento micelial de *A. alternata* al día 9 y 12. En el caso del tratamiento Pectina-AEO 25.9 mg/mL presentó crecimiento del hongo hasta el día 12. En cambio, en Pectina-AEO

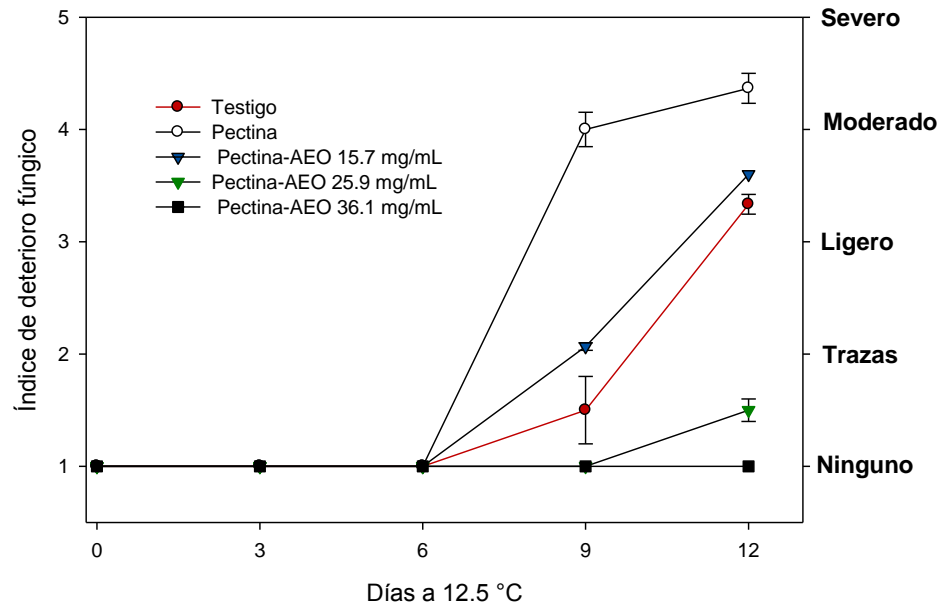


Figura 7. Efecto antifúngico de AEO en tomates inoculados con *A. alternata* almacenados durante 12 días a 12.5 °C. *Diferente literal en línea indica diferencia ($p < 0.05$) entre las medias, $n=3$. Media \pm Error estándar.

36.1 mg/mL no presentó crecimiento de *A. alternata* a lo largo de los 12 días de almacenamiento. En la **Figura 8**, se observa el efecto global del índice de deterioro fúngico. En este caso, disminuyó ($p < 0.05$) el índice de deterioro de los tomates, en las concentraciones mayores de AEO adicionado a lo recubrimientos de pectina (25.9 y 36.1 mg/mL). Donde, se logró el 100 de inhibición *A. alternata* a la concentración de 36.1 mg/mL.

Existen otros trabajos, donde han sido utilizados distintos AE como aditivos antifúngicos en tomate. Tian et al. (2011), aplicaron AE de eneldo (120 μ L/mL) en tomate cherry, provocando una reducción de 83.3 % de los frutos infectados por *A. alternata* con respecto al testigo. Por otro lado, tomate cherry tratado con cubiertas activas de parafina y corteza de canela (6 % p/p) redujeron en un 90 % la infección por *A. alternata* con respecto al testigo (Rodríguez-Lafuente et al., 2010). Phillips et al. (2012), encontraron que al aplicar AE de cítricos de la marca Citri-V™® en forma de vapor (15 mg/L) en tomate, este no tenía un efecto en la inhibición de *A. alternata*. Esto hace evidente el potencial antifúngico de los AEO contra *A. alternata*, donde se logró la inhibición del 100%. Comparando nuestro estudio con trabajos previos y haciendo las conversiones correspondientes, notamos que las concentraciones son superiores a las de este trabajo con AEO. Esto se puede deber a que los principales componentes del AEO, como es carvacrol, tienen mayor efecto contra los hongos con respecto a los compuestos del AE de eneldo, canela y citrus que son carvona, *trans*-cinamaldehído y citral, respectivamente (Neri et al., 2009).

El AEO ha sido efectivo para inhibir el crecimiento de diferentes hongos que ocasionan deterioro en el tomate. Emulsiones de AEO (5000 y 10 000 ppm) redujeron el crecimiento de *B. cinerea* y *Alternaria arborescens* en tomate (Plotto et al., 2003). De la misma manera, vapores de AEO (0.4 mL/L), redujeron arriba del 50% el desarrollo de *Colletotrichum coccodes*, con respecto al tomate testigo (Tzortzakis, 2010). Adicionalmente, Soylyu et al.(2010), encontraron que la aplicación de este aceite (75 mg/mL) en plantas de tomate,

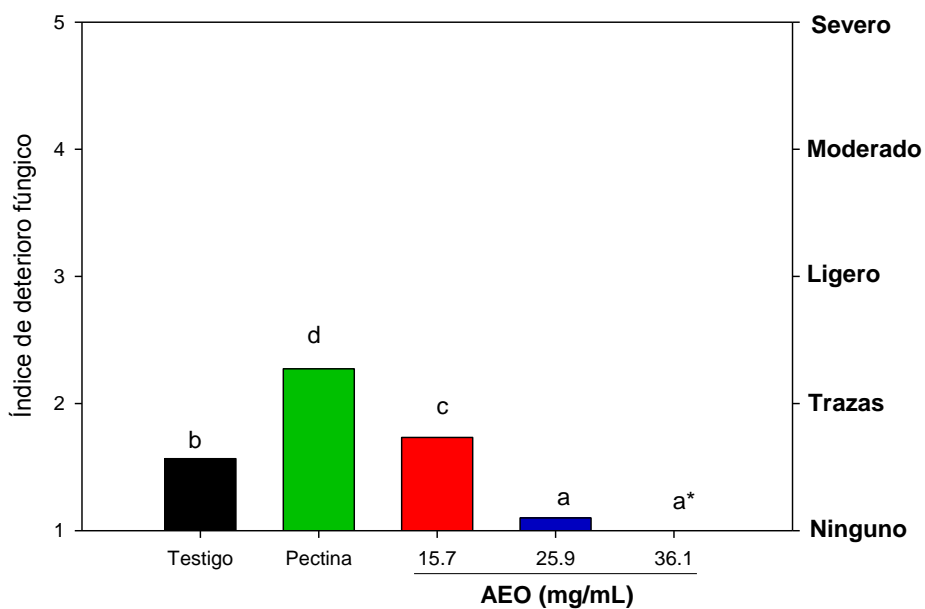


Figura 8. Efecto global del índice de deterioro fúngico en tomates tratados e inoculados con *A. alternata* almacenados durante 12 días a 12.5 °C. *Diferente literal en línea indica diferencia ($p < 0.05$) entre las medias, $n=3$.

provocaba una reducción de 77.37% en la infección provocada por *B. cinerea*. Aunque las concentraciones son menores a las que se utilizaron en el trabajo presente, con estos estudios reafirma que el AEO es un aditivo potencial antifúngico, que ayuda a la disminución del deterioro del tomate. La concentración de AEO varía dependiendo la composición de el aceite, la cual esta influenciada por la temporada de cosecha y la localidad geográfica.

El efecto antifúngico del AEO se ha observado en otros frutos diferentes al tomate. En limones inoculados con *P. digitatum* fueron tratados con carvacrol y timol (500 $\mu\text{L/L}$), y esto provocó el 100% de la inhibición del crecimiento del hongo (Perez-Alfonso et al., 2012). En otro estudio, recubrimientos de quitosano adicionados con AEO (5 $\mu\text{L/mL}$) fueron aplicados a uvas inoculadas con *A. niger*, las cuales no mostraron crecimiento de este hongo a lo largo de los 12 días de almacenamiento (Timoteo dos Santos et al., 2012). Haciendo una comparación entre las concentraciones de éstos trabajos y el presente estudio, la mayoría de los trabajos anteriores mencionados son superiores a las de éste estudio. Dentro de los factores que influyen en las discrepancias, esta la utilización de diferentes especies de orégano, el estado de madurez de los frutos, el tiempo y la temperatura de almacenamiento, el método de aplicación de los tratamientos y de inoculación de los hongos.

Capacidad antioxidante de los tomates tratados con los recubrimientos formulados

Se aplicaron los tratamientos de los recubrimientos formulados sobre los frutos de tomate, los cuales fueron almacenados durante doce días a 12.5 °C. Se hicieron muestreos cada tres días, a partir de los cuales se hicieron extractos, y se les midió el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante, utilizando el ensayo de inhibición del radical ABTS. En la **Figura 9**, se muestra el contenido de fenoles tratados de los tomates a lo largo de los 12

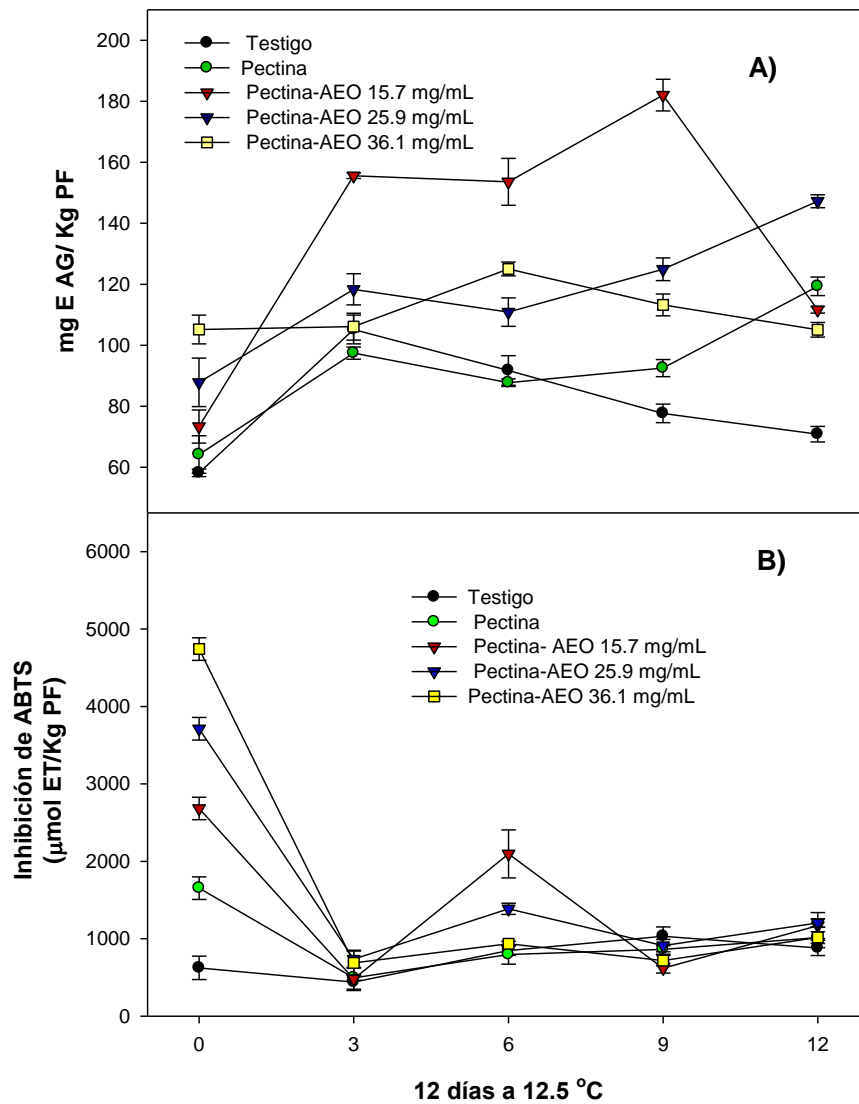


Figura 9. Contenido de fenoles totales (A) y capacidad antioxidante (B) de los frutos de tomate tratados con los recubrimientos de pectina adicionados con AEO almacenados durante 12 días a 12.5 °C. Media ± Error estándar.

días de almacenamiento. Donde se observa que el mayor contenido de fenoles fue el del tratamiento de Pectina-AEO 15.7 mg/mL. Aunque, también fueron mayores los valores de fenoles de los demás tratamientos, con respecto al testigo. Sin embargo, la mayor actividad antioxidante fue al día cero (4741.55 $\mu\text{mol E Trolox}$ por Kg de peso fresco) a la concentración mayor de AEO adicionada a los recubrimientos de pectina (36.1 mg/mL). Pero, a lo largo de los días de almacenamiento los valores de la actividad antioxidante fueron muy similares.

En la **Figura 10 (A)**, se presenta el efecto global de los tratamientos en los 12 días. En los frutos tratados con los recubrimientos formulados con diferentes concentraciones de AEO se encontraron diferencias ($p < 0.05$) en el contenido de fenoles totales. Se observó un incremento ($p < 0.05$) en el contenido de fenoles en los tomates tratados. Siendo el de mayor cantidad la concentración de 15.7 mg/mL (135.23 mg E ácido gálico por Kg de peso fresco). Con esto, se puede visualizar que el incremento de fenoles totales es atribuido a la adición del AEO.

En la **Figura 10 (B)**, se observa que conforme se aumentó la concentración de AEO en los tomates tratados existió un incremento ($p < 0.05$) en la actividad antioxidante. La concentración más alta de AEO presentó una concentración de 1620.113 $\mu\text{mol E Trolox}$ por Kg de peso fresco, siendo 2.12 veces más que el contenido de fenoles totales presente en el testigo. Comparando la cantidad de fenoles totales, entre la concentración mayor de AEO adicionado a los recubrimientos formulados y la concentración baja e intermedia, fue de 1.39 y 1.02 veces, respectivamente. Debido a que los compuestos fenólicos están relacionados con la capacidad antioxidante del aceite, se midió la actividad utilizando el ensayo antioxidante ABTS.

Existen diferentes tecnologías que han sido utilizados para mejorar la calidad de tomates y que han impactado la capacidad antioxidante. Donde el aumento de fenoles totales, puede ser debido a que los tratamientos crean un microambiente estresante los cuales activan enzimas del sistema antioxidante

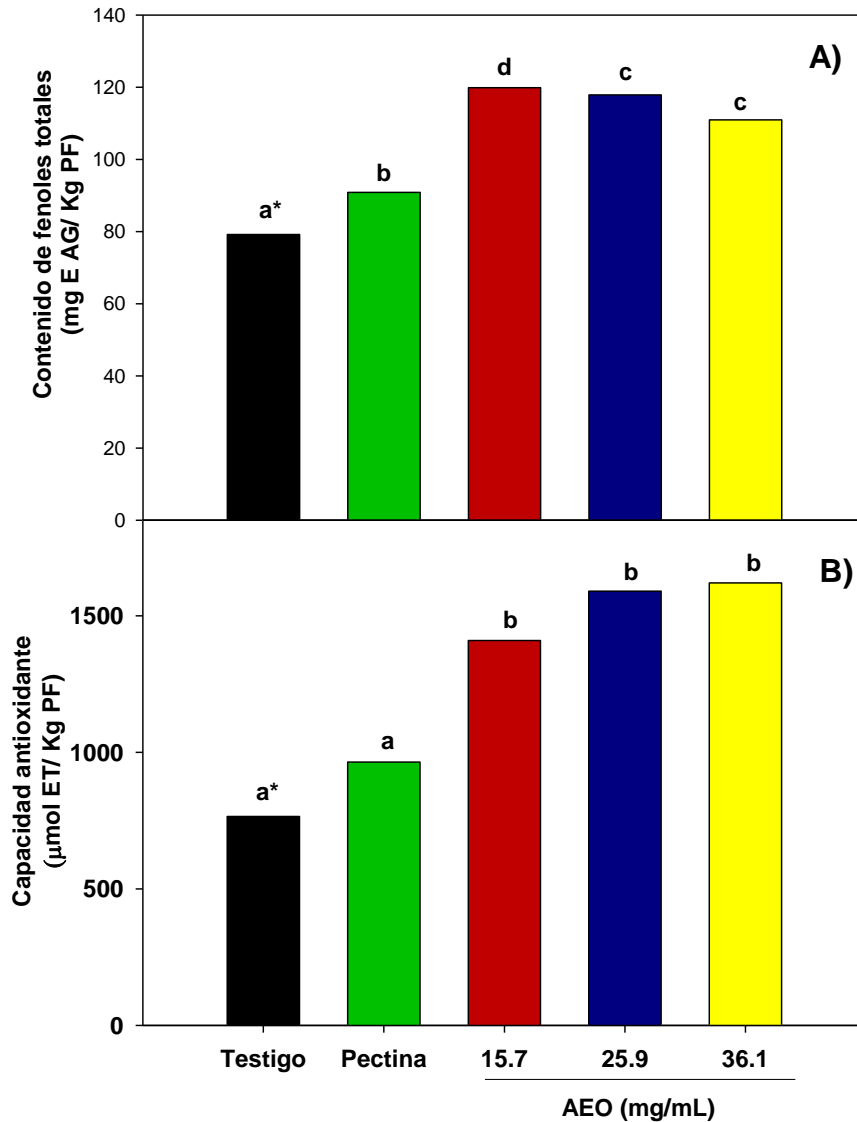


Figura 10. Efecto global del contenido de fenoles totales (A) y capacidad antioxidante (B) de los frutos de tomate tratados con los recubrimientos de pectina adicionados con AEO almacenados durante 12 días a 12.5 °C. *Diferente literal en columna indica diferencia ($p < 0.05$) entre las medias, $n=5$

(Jin et al., 2012). En un trabajo realizado con recubrimiento de suero de leche deslactosado fue aplicado a tomate, incrementando la capacidad antioxidante alrededor de 1.3 veces al día 21, con respecto a los tratados con cloro (Ahmed et al., 2013). En cambio, en tomates expuestos a aire enriquecido con AE de canela (50 y 500 ppm), donde no hubo un efecto significativo en el contenido total de fenoles (Tzortzakis, 2007). Por otro lado, frambuesas tratadas con carvacrol, se observó un incremento en fenoles totales de 1.2 veces aproximadamente con respecto al testigo (Jin et al., 2012). Otro trabajo realizado con fresa tratada con timol, aumentó su capacidad aproximadamente hasta 1.4 veces con respecto el testigo (Wang et al., 2007). Contrastando con el presente trabajo, donde se obtuvo un incremento de 2.06 veces de fenoles totales al día 12. Esto se puede deber a que el AEO tiene mayor actividad con respecto a otras especias como es la canela (Shan et al., 2005).

El aumento en la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles en los frutos tratados con AEO o sus componetes, genera un alimento potencial con propiedades extras que son benéficas a la salud. Esto se ha observado, al utilizar extracto de *O. vulgare* (100 mg/mL), el cual presentó un efecto de apoptosis sobre células Caco2 de cáncer de colón (Savini et al., 2009). También ha demostrado propiedades antiinflamatorias, como en el trabajo realizado con AEO (*O. vulgare* 30 µg/mL) tuvo un efecto en la disminución en la síntesis de las citocinas proinflamatorias TNF- α , IL-1 β y IL-6 (Ocaña-Fuentes et al., 2010). Además, Yu (2013), encontró a carvacrol con un potencial cardioprotector, reduciendo el tamaño del infarto miocardio en ratas y algunas enzimas miocardias (Yu et al., 2013). A pesar de que existen trabajos que muestran estos efectos benéficos a la salud, sería necesario hacer otros estudios que comprobaran que los tomates aplicados con AEO tienen propiedades que ayudan a mejorar la salud humana.

Análisis Sensorial

Se hizo una prueba afectiva de olor y sabor de los frutos, utilizando una escala hedónica desde (0) desagrada extremadamente a (10) agrada extremadamente. Los tomates fueron cubiertos por los distintos tratamientos y se almacenaron durante 10 días a 12.5 °C, a partir de estos se hicieron jugos y se dieron a probar al público. La aceptabilidad en olor no tuvo diferencias ($p > 0.05$), **Figura 11**. Esto quiere decir, que el consumidor percibió como aceptable el olor de los distintos tratamientos, como lo hace con el olor del testigo. La aceptabilidad en sabor tuvo un efecto ($p < 0.05$) en todos los tratamientos. Los tratamientos testigo, pectina y la concentración más baja de AEO (15.7 mg/mL), fueron los que tuvieron una evaluación aceptable. A pesar que la mayor calificación la obtuvieron los tratamientos tratados con pectina, la concentración menor de AEO (15.7 mg/mL) fue estadísticamente igual al testigo. Sin embargo, las concentraciones mayores (25.9 y 36.1 mg/mL) fueron las que presentaron un efecto antifúngico, solo que para la aceptabilidad de sabor no tuvo un resultado favorecedor.

Uno de los factores que limitan el efecto antimicrobiano es el impacto sensorial que puede producir el AE sobre los alimentos (Muriel-Galet et al., 2013). Jugo de tomate con quitosano adicionado con extracto de *Lithospermum erythrorhizon* (100 mg/L) fue aceptable sensorialmente, sin embargo, a esta concentración no hubo un efecto antimicrobiano (Giner et al., 2012). De lo contrario, uva tratada con recubrimientos de quitosano y AEO (2.5 y 5 μ L/mL) produjeron un efecto antifúngico con *A. niger*, sin embargo, sensorialmente no fue aceptable. Asimismo, emulsiones de AE de canela fueron aplicadas a fresa, donde la concentración que tuvo un efecto antifúngico fue desagradable moderadamente (0.005 g/mL) (Ortega-Ramirez, 2011). Lo anterior refleja el reto que presenta plantear el uso de aceites esenciales como aditivos alimentarios, que sean eficaces como antimicrobianos, antioxidantes y sensorialmente aceptables por parte del consumidor.

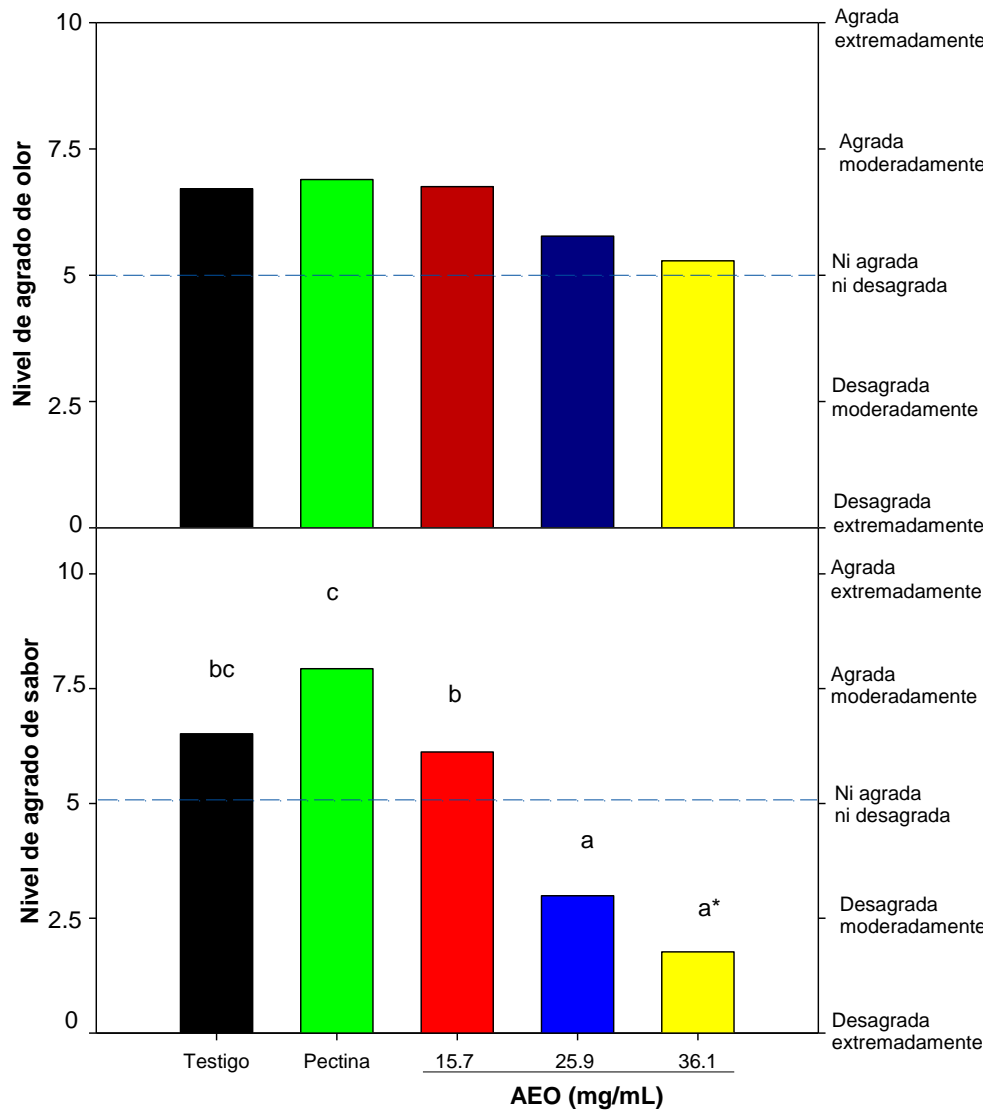


Figura 11. Evaluación de la aceptabilidad de olor y sabor de los frutos de tomate, almacenados 12 días a 12.5 °C. * Diferente literal en columna indica diferencias ($p < 0.05$) entre las medias, $n = 30$

Además de ser utilizado como aditivo antioxidante y antimicrobiano en los alimentos, el orégano es tradicionalmente usado en la preparación de los platillos italianos, griegos y mexicanos (Bansleben et al., 2010). Esto se debe a que los compuestos bioactivos del orégano, proporcionan notas de aroma/sabor característico que hacen fácil la combinación con otros platillos. Entre estos compuestos están: α -tujeno (herbal, madera, verde) mircenol (balsámico, especias), carvacrol (herbal), timol (herbal) y *p*-cimeno (herbal) (Acree y Arn, 2004, Ayala-Zavala et al., 2009). El arte tradicional del sazón de alimentos, consiste generalmente en la adición de olores frescos, hierba y picante de las hierbas y especias, de aquí que surja la idea, de que el AEO podría ser usado como saborizante.

CONCLUSIONES

Los recubrimientos antifúngicos de pectina adicionados con AEO tuvieron un efecto antifúngico en los frutos de tomate almacenados. La concentraciones mayores de 25.9 y 36.1 mg/mL tuvieron el mayor efecto como antifúngico en los frutos de tomate inoculados. Además, que existió un incremento en el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de los tomates tratados conforme se aumentó la concentración de AEO. En el análisis sensorial la concentración más baja (15.7 mg/mL), pectina y el testigo fueron las de mayor aceptabilidad en sabor. Por lo tanto, La adición de aceite esencial de orégano en recubrimientos de pectina redujo el deterioro fúngico, así como aumentó la capacidad antioxidante, y a bajas concentraciones otorgó un sabor aceptable a frutos de tomate.

RECOMENDACIONES

Se sugiere trabajar en el rango de concentraciones de AEO de 15.7 mg/mL a 25.9 mg/mL, la cuales pueden ser factibles para encontrar la concentración que sea aceptable sensorialmente en sabor y además que tenga un efecto antifúngico y antioxidante. Así también, se sugiere evaluar factores que determinan la calidad del tomate a lo largo del almacenamiento como es: pH, acidez titulable, peso, firmeza, sólido solubles totales, color, tasa de respiración. Comprobar que los frutos de tomate adicionados con los recubrimientos de pectina adicionados con AEO, podrían otorgar otras propiedades bioactivas atribuidas al aceite como: antiinflamatorias, anticancerígenas, cardioprotectoras, y neuroprotectoras.

REFERENCIAS

Aaslyng, M. D. y M. B. Frost (2010). The effect of the combination of salty, bitter and sour accompaniment on the flavor and juiciness of pork patties. *J. Sens. Stud.* 25(4): 536-548.

Acree, T. y H. Arn. (2004). Flavornet. de <http://www.flavornet.org/>.

Ahmad, A., A. Khan, F. Akhtar, S. Yousuf, I. Xess, L. A. Khan y N. Manzoor (2011). Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 30(1): 41-50.

Ahmed, L., A. B. Martin-Diana, D. Rico y C. Barry-Ryan (2013). Effect of delactosed whey permeate treatment on physico-chemical, sensorial, nutritional and microbial properties of whole tomatoes during postharvest storage. *Lwt-Food Sci. Technol.* 51(1): 367-374.

Amadio, C., R. Medina, C. Dediol, M. É. Zimmermann y S. Miralles (2011). *Origanum* essential oil: a potential food additive. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Uncuyo* 43(1): 237-245.

America, T. H. S. O. (2005). Oregano and marjoram an herb society of America guide to the genus *Origanum*. de <http://www.herbsociety.org>.

Alinkina, E. S., T. A. Misharina y L. D. Fatkullina (2013). Antiradical properties of oregano, thyme, and savory essential oils. *Appl. Biochem. Micro.* 49(1): 73-78.

Arana-Sánchez, A., M. Estarrón-Espinosa, E. N. Obledo-Vázquez, E. Padilla-Camberos, R. Silva-Vázquez y E. Lugo-Cervantes (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of Mexican oregano essential oils (*Lippia graveolens* H. B. K.) with different composition when microencapsulated in β -cyclodextrin. *Lett. Appl. Microbiol.* 50(6): 585-590.

Arcila-Lozano, C. C., G. Loarca-Piña, S. Lecona-Urbe y E. González de Mejía (2004). El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. Arch. Latinoam. Nutr. 54(1): 100-111.

Asensio, C. M., V. Nepote y N. R. Grosso (2012). Sensory attribute preservation in extra virgin olive oil with addition of oregano essential oil as natural antioxidant. J. Food Sci. 77(9): S294-S301.

Atrea, I., A. Papavergou, I. Amvrosiadis y I. N. Savvaidis (2009). Combined effect of vacuum-packaging and oregano essential oil on the shelf-life of Mediterranean octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea stored at 4 degrees C. Food Microbiol. 26(2): 166-172.

Avila-Ramos, F., A. Pro-Martinez, E. Sosa-Montes, J. M. Cuca-Garcia, C. M. Becerril-Perez, J. L. Figueroa-Velasco y C. Narciso-Gaytan (2012). Effects of dietary oregano essential oil and vitamin E on the lipid oxidation stability of cooked chicken breast meat. Poultry Sci. 91(2): 505-511.

Avila-Sosa, R., M. Guadalupe Gastelum-Franco, A. Camacho-Davila, J. Vinicio Torres-Munoz y G. Virginia Nevarez-Moorillon (2010). Extracts of Mexican Oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) with Antioxidant and Antimicrobial Activity. Food Bioprocess Tech. 3(3): 434-440.

Avila-Sosa, R., E. Hernandez-Zamoran, I. Lopez-Mendoza, E. Palou, M. T. Jimenez Munguia, G. Virginia Nevarez-Moorillon y A. Lopez-Malo (2010). Fungal inactivation by mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil added to amaranth, chitosan, or starch edible films. J. Food Sci. 75(3): M127-M133.

Ayala-Zavala, J. F. y G. A. González-Aguilar (2010). Optimizing the use of garlic oil as antimicrobial agent on fresh-cut tomato through a controlled release system. J. Food Sci. 75(7): M398-M405.

Ayala-Zavala, J. F., G. A. Gonzalez-Aguilar y L. del-Toro-Sanchez (2009). Enhancing safety and aroma appealing of fresh-cut fruits and vegetables using the antimicrobial and aromatic power of essential oils. J. Food Sci. 74(7): R84-R91.

Ayala-Zavala, J. F., B. A. Silva-Espinoza, M. R. Cruz-Valenzuela, J. M. Leyva, L. A. Ortega-Ramirez, D. K. Carrasco-Lugo, J. J. Perez-Carlon, B. G. Melgarejo-Flores, G. A. Gonzalez-Aguilar y M. R. A. Miranda (2013). Pectin-cinnamon leaf oil coatings add antioxidant and antibacterial properties to fresh-cut peach. Flavour Frag. J. 28(1): 39-45.

Bakkali, F., S. Averbeck, D. Averbeck y M. Waomar (2008). Biological effects of essential oils - A review. *Food Chem. Toxicol.* 46(2): 446-475.

Bansleben, A.-C., I. Schellenberg, D. Ulrich y D. Bansleben (2010). A new and efficient sensory method for a comprehensive assessment of the sensory quality of dried aroma-intensive herbs using oregano as a reference plant. *Flavour Frag. J.* 25(4): 214-218.

Ben Arfa, A., S. Combes, L. Preziosi-Belloy, N. Gontard y P. Chalier (2006). Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. *Lett. Appl. Microbiol.* 43(2): 149-154.

Benakmoum, A., S. Abbeddou, A. Ammouche, P. Kefalas y D. Gerasopoulos (2008). Valorisation of low quality edible oil with tomato peel waste. *Food Chem.* 110(3): 684-690.

Benavides, S., R. Villalobos-Carvajal y J. E. Reyes (2012). Physical, mechanical and antibacterial properties of alginate film: Effect of the crosslinking degree and oregano essential oil concentration. *J. Food Eng.* 110(2): 232-239.

Bendahou, M., A. Muselli, M. Grignon-Dubois, M. Benyoucef, J.-M. Desjobert, A.-F. Bernardini y J. Costa (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum glandulosum* Desf. essential oil and extract obtained by microwave extraction: Comparison with hydrodistillation. *Food Chem.* 106(1): 132-139.

Bevilacqua, A., M. R. Corbo y M. Sinigaglia (2012). Use of natural antimicrobials and high pressure homogenization to control the growth of *Saccharomyces bayanus* in apple juice. *Food Control* 24(1-2): 109-115.

Bierhalz, A. C. K., M. A. da Silva y T. G. Kieckbusch (2012). Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications. *J. Food Eng.* 110(1): 18-25.

Boroski, M., A. C. de Aguiar, J. S. Boeing, E. M. Rotta, C. L. Wibby, E. G. Bonafe, N. E. de Souza y J. V. Visentainer (2011). Enhancement of pasta antioxidant activity with oregano and carrot leaf. *Food Chem.* 125(2): 696-700.

Botsoglou, N. A., A. Govaris, E. N. Botsoglou, S. H. Grigoropoulou y G. Papageorgiou (2003). Antioxidant activity of dietary oregano essential oil and alpha-tocopheryl acetate supplementation in long-term frozen stored turkey meat. *J. Agr. Food Chem.* 51(10): 2930-2936.

Bukovsk, A., S. Cikos, S. Juhas, G. Il'kova, P. Rehak y J. Koppel (2007). Effects of a combination of thyme and oregano essential oils on TNBS-Induced colitis in mice. *Mediat. Inflamm.* 2007.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94(3): 223-253.

Busatta, C., A. J. Mossi, M. R. A. Rodrigues, R. L. Cansian y J. V. de Oliveira (2007). Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. *Braz. J. Microbiol.* 38(4): 610-616.

Busatta, C., R. S. Vidal, A. S. Popiolski, A. J. Mossi, C. Dariva, M. R. A. Rodrigues, F. C. Corazza, M. L. Corazza, J. V. Oliveira y R. L. Cansian (2008). Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food Microbiol.* 25(1): 207-211.

Campos, C. A., L. N. Gerschenson y S. K. Flores (2011). Development of Edible Films and Coatings with Antimicrobial Activity. *Food Bioprocess Tech.* 4(6): 849-875.

Cardillo, D., A. Bevilacqua, F. Cibelli, C. Altieri y M. Sinigaglia (2009). Modelling the survival of *Escherichia coli* O157:H7 on raw portioned tomatoes, inoculated with *Aspergillus fumigatus* and *Emericella nidulans*. *J. Biomed. Biotechnol.* 2009: 1-7

Cosge, B., A. Turker, A. Ipek, B. Gurbuz y N. Arslan (2009). Chemical compositions and antibacterial activities of the essential oils from aerial parts and Corollas of *Origanum acutidens* (Hand.-Mazz.) Letswaart, an Endemic Species to Turkey. *Molecules* 14(5): 1702-1712.

Cristani, M., M. D'Arrigo, G. Mandalari, F. Castelli, M. G. Sarpietro, D. Micieli, V. Venuti, G. Bisignano, A. Saija y D. Trombetta (2007). Interaction of four monoterpenes contained in essential oils with model membranes: Implications for their antibacterial activity. *J. Agr. Food Chem.* 55(15): 6300-6308.

Choe, E. y D. B. Min (2006). Mechanisms and factors for edible oil oxidation. *Compr. Rev. Food Sci. F.* 5(4): 169-186.

Daferera, D. J., B. N. Ziogas y M. G. Polissiou (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agr. Food Chem.* 48(6): 2576-2581.

Davila-Avina, J. E. J., J. Villa-Rodríguez, R. Cruz-Valenzuela, M. Rodríguez-Armenta, M. Espino-Díaz, J. F. Ayala-Zavala, G. I. Olivas-Orozco, B. Heredia y G. González-Aguilar (2010). Effect of edible coatings, storage time and maturity stage on overall quality of tomato fruits. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 6(1): 162-171.

de Azeredo, G. A., T. L. Montenegro Stamford, P. C. Nunes, N. J. Gomes Neto, M. E. Comes de Oliveira y E. L. de Souza (2011). Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. and *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. *Food Res. Int.* 44(5): 1541-1548.

Demirbas, A. (2010). Oil, micronutrient and heavy metal contents of tomatoes. *Food Chem.* 118(3): 504-507.

Falguera, V., J. P. Quintero, A. Jimenez, J. A. Muñoz y A. Ibarz (2011). Edible films and coatings: Structures, active functions and trends in their use. *Trends Food Sci. Tech.* 22(6): 292-303.

Fasseas, M. K., K. C. Mountzouris, P. A. Tarantilis, M. Polissiou y G. Zervas (2008). Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chem.* 106(3): 1188-1194.

Feng, W. y X. D. Zheng (2007). Essential oils to control *Alternaria alternata* *in vitro* and *in vivo*. *Food Control* 18(9): 1126-1130.

Félix-Gastelum, R. y C. A. Gálvez-Figueroa (2002). Control del moho negro, *Alternaria alternata* (FR.:FR) en el fruto de tomate (*Lycopersicon Esculentum* Mill.) considerando unidades de calor y variables ambientales para la aplicación de Azoxystrobin en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20(1): 71-76.

Flores Hernández, A., J. A. Hernández Herrera, J. I. López Medrano, L. M. Valenzuela Núñez, M. Martínez Salvador y H. Madinaveitia Ríos (2012). Producción y extracción de aceite de orégano (*Lippia graveolens* Kunth) bajo cultivo en la Comarca Lagunera. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 2 (3).

Franz, C., K. H. C. Baser y W. Windisch (2010). Essential oils and aromatic plants in animal feeding - a European perspective. A review. *Flavour Frag. J.* 25(5): 327-340.

Giner, M. J., S. Vegara, L. Funes, N. Martí, D. Saura, V. Micol y M. Valero (2012). Antimicrobial activity of food-compatible plant extracts and chitosan

against naturally occurring micro-organisms in tomato juice. *J. Sci. Food Agr.* 92(9): 1917-1923.

Gonzalez-Aguilar, G. A., M. A. Villegas-Ochoa, M. A. Martinez-Tellez, A. A. Gardea y J. F. Ayala-Zavala (2007). Improving antioxidant capacity of fresh-cut mangoes treated with UV-C. *J. Food Sci.* 72(3): S197-S202.

Goulas, A. E. y M. G. Kontominas (2007). Combined effect of light salting, modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. *Food Chem.* 100(1): 287-296.

Govaris, A., N. Solomakos, A. Pexara y P. S. Chatzopoulou (2010). The antimicrobial effect of oregano essential oil, nisin and their combination against *Salmonella* Enteritidis in minced sheep meat during refrigerated storage. *Int. J. Food Microbiol.* 137(2-3): 175-180.

Guarda, A., J. F. Rubilar, J. Miltz y M. J. Galotto (2011). The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol. *Int. J. Food Microbiol.* 146(2): 144-150.

Gumus, T., A. Demirci, O. Sagdic y M. Arici (2010). Inhibition of heat resistant molds: *Aspergillus fumigatus* and *Paecilomyces variotii* by some plant essential oils. *Food Sci. Biotechnol.* 19(5): 1241-1244.

Gutierrez, J., C. Barry-Ryan y P. Bourke (2009). Antimicrobial activity of plant essential oils using food model media: Efficacy, synergistic potential and interactions with food components. *Food Microbiol.* 26(2): 142-150.

Gutierrez, L., A. Escudero, R. Batlle y C. Nerin (2009). Effect of mixed antimicrobial agents and flavors in active packaging films. *J. Agr. Food Chem.* 57(18): 8564-8571.

Handl, S., P. Hellweg, A. Khol-Parisini, B. Rossmann, K. Thurner, W. Luf, J. Novak y J. Zentek (2008). Effect of oregano (*O. majorana* and *O. vulgare*) on performance and antioxidative capacity of quails fed a diet rich in ω 3 fatty acids. *J. Anim. Physiol. An. N.* 92(3): 242-245.

Hossain, M. A., Z. Ismail, A. Rahman y S. C. Kang (2008). Chemical composition and anti-fungal properties of the essential oils and crude extracts of *Orthosiphon stamineus* Benth. *Ind. Crop Prod.* 27(3): 328-334.

Houhoula, D. P., V. Oreopoulou y C. Tzia (2004). Antioxidant efficiency of oregano in frying and storage of fried products. *Eur. J. Lipid. Sci. Tech.* 106(11): 746-751.

Jasso de Rodriguez, D., R. Rodriguez Garcia, F. D. Hernandez Castillo, C. N. Aguilar Gonzalez, A. Saenz Galindo, J. A. Villarreal Quintanilla y L. E. Moreno Zuccolotto (2011). *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahuan Desert plants against postharvest fruit fungi. *Ind. Crop. Prod.* 34(1): 960-966.

Jerković, I., J. Mastelić y M. Miloš (2001). The impact of both the season of collection and drying on the volatile constituents of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* grown wild in Croatia. *Int. J. Food. Sci. Tech.* 36(6): 649-654.

Jin, P., S. Y. Wang, H. Gao, H. Chen, Y. Zheng y C. Y. Wang (2012). Effect of cultural system and essential oil treatment on antioxidant capacity in raspberries. *Food Chem.* 132(1): 399-405.

Jin, P., X. Wu, F. Xu, X. Wang, J. Wang y Y. Zheng (2012). Enhancing antioxidant capacity and reducing decay of chinese bayberries by essential oils. *J. Agr. Food Chem.* 60(14): 3769-3775.

Kaneria, M. y S. Chanda (2013). Evaluation of antioxidant and antimicrobial capacity of *Syzygium Cumini* L. leaves extracted sequentially in different solvents. *J. Food Biochem.* 37(2): 168-176.

Kaur, C., B. George, N. Deepa, B. Singh y H. C. Kapoor (2004). Antioxidant status of fresh and processed tomato - A review. *J. Food Sci. Tech. Mys.* 41(5): 479-486.

Kocic-Tanackov, S., G. Dimic, I. Tanackov, D. Pejin, L. Mojovic y J. Pejin (2012). The inhibitory effect of oregano extract on the growth of *Aspergillus* spp. and on sterigmatocystin biosynthesis. *Lwt-Food Scig Technol.* 49(1): 14-20.

Kordali, S., A. Cakir, H. Ozer, R. Cakmakci, M. Kesdek y E. Mete (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and *p*-cymene. *Bioresource Technol.* 99(18): 8788-8795.

Krkić, N., B. Šojić, V. Lazić, L. Petrović, A. Mandić, I. Sedej y V. Tomović (2013). Lipid oxidative changes in chitosan-oregano coated traditional dry fermented sausage Petrovská klobása. *Meat Sci.* 93(3): 767-770.

Lagouri, V., A. Bantouna y P. Stathopoulos (2010). A comparison of the antioxidant activity and phenolic content of nonpolar and polar extracts obtained from four endemic *Lamiaceae* species grown in Greece. *J. Food Process Pres.* 34(5): 872-886.

Lambert, R. J. W., P. N. Skandamis, P. J. Coote y G. J. E. Nychas (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.* 91(3): 453-462.

Loizzo, M. R., F. Menichini, F. Conforti, R. Tundis, M. Bonesi, A. M. Saab, G. A. Statti, B. d. Cindio, P. J. Houghton, F. Menichini y N. G. Frega (2009). Chemical analysis, antioxidant, antiinflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils. *Food Chem.* 117(1): 174-180.

Lopez-Reyes, J. G., D. Spadaro, M. L. Gullino y A. Garibaldi (2010). Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples *in vivo*. *Flavour Frag. J.* 25(3): 171-177.

Lucini, E. I., M. P. Zunino, M. L. Lopez y J. A. Zygodlo (2006). Effect of monoterpenes on lipid composition and sclerotial development of *Sclerotium cepivorum* Berk. *J. Phytopathol.* 154(7-8): 441-446.

Marcincak, S., R. Cabadaj, P. Popelka y L. Soltysova (2008). Antioxidative effect of oregano supplemented to broilers on oxidative stability of poultry meat. *Slov. Vet. Res.* 45(2): 61-66.

Marei, G. I. K., M. A. A. Rasoul y S. A. M. Abdelgaleil (2012). Comparative antifungal activities and biochemical effects of monoterpenes on plant pathogenic fungi. *Pestic. Biochem. Phys.* 103(1): 56-61.

Martínez-Rocha, A., R. Puga, L. Hernández-Sandoval, G. Loarca-Piña y S. Mendoza (2008). Antioxidant and antimutagenic activities of Mexican oregano (*Lippia graveolens* Kunth). *Plant Food Hum. Nutr.* 63(1): 1-5.

Martinez-Romero, D., F. Guillen, J. M. Valverde, G. Bailen, P. Zapata, M. Serrano, S. Castillo y D. Valero (2007). Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in table grapes. *Int. J. Food Microbiol.* 115(2): 144-148.

Mastelic, J., I. Jerkovic, I. Blazevic, M. Poljak-Blazi, S. Borovic, I. Ivancic-Bace, V. Smrecki, N. Zarkovic, K. Brcic-Kostic, D. Vikić-Topic y N. Mueller (2008).

Comparative study on the antioxidant and biological activities of carvacrol, thymol, and eugenol derivatives. *J. Agr. Food Chem.* 56(11): 3989-3996.

Mechergui, K., J. A. Coelho, M. C. Serra, S. B. Lamine, S. Boukhchina y M. L. Khouja (2010). Essential oils of *Origanum vulgare* L. subsp. *glandulosum* (Desf.) letswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. *J. Sci. Food Agr.* 90(10): 1745-1749.

Medeiros, B. G. de S., A. C. Pinheiro, M. G. Carneiro-da-Cunha y A. A. Vicente (2012). Development and characterization of a nanomultilayer coating of pectin and chitosan – Evaluation of its gas barrier properties and application on ‘Tommy Atkins’ mangoes. *J. Food Eng.* 110(3): 457-464.

Michiels, J., J. Missotten, D. Fremaut, S. De Smet y N. Dierick (2007). *In vitro* dose–response of carvacrol, thymol, eugenol and trans-cinnamaldehyde and interaction of combinations for the antimicrobial activity against the pig gut flora. *Livest. Sci.* 109(1–3): 157-160.

Moalemiyan, M., H. S. Ramaswamy y N. Maftoonazad (2012). Pectin-based edible coating for shelf-life extension of Ataulfo mango. *J. Food Process Eng.* 35(4): 572-600.

Moradi, M., H. Tajik, S. M. Razavi Rohani, A. R. Oromiehie, H. Malekinejad, J. Aliakbarlu y M. Hadian (2012). Characterization of antioxidant chitosan film incorporated with *Zataria multiflora* Boiss essential oil and grape seed extract. *LWT - Food Sci. Technol.* 46(2): 477-484.

Muriel-Galet, V., J. R. Cerisuelo, G. Lopez-Carballo, S. Aucejo, R. Gavara y P. Hernandez-Munoz (2013). Evaluation of EVOH-coated PP films with oregano essential oil and citral to improve the shelf-life of packaged salad. *Food Control* 30(1): 137-143.

Navarro, D., H. M. Diaz-Mula, F. Guillen, P. J. Zapata, S. Castillo, M. Serrano, D. Valero y D. Martinez-Romero (2011). Reduction of nectarine decay caused by *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* and *Penicillium digitatum* with *Aloe vera* gel alone or with the addition of thymol. *Int. J. Food Microbiol.* 151(2): 241-246.

Neri, F., M. Mari, S. Brigati y P. Bertolini (2009). Control of *Neofabraea alba* by plant volatile compounds and hot water. *Postharvest Biol. Tec.* 51(3): 425-430.

Ocaña-Fuentes, A., E. Arranz-Gutiérrez, F. J. Señorans y G. Reglero (2010). Supercritical fluid extraction of oregano (*Origanum vulgare*) essentials oils: Anti-

inflammatory properties based on cytokine response on THP-1 macrophages. *Food Chem. Toxicol.* 48(6): 1568-1575.

Olmedo, R. H., C. Asensio, V. Nepote, M. G. Mestrallet y N. R. Grosso (2009). Chemical and sensory stability of fried-salted peanuts flavored with oregano essential oil and olive oil. *J. Sci. Food Agr.* 89(12): 2128-2136.

Ortega-Nieblas, M. M., M. R. Robles-Burgueno, E. Acedo-Felix, A. Gonzalez-Leon, A. Morales-Trejo y L. Vazquez-Moreno (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of oregano (*Lippia palmeri* S. Wats) essential oil. *Rev. Fitotec. Mex.* 34(1): 11-17.

Ortega-Ramirez, L. A. (2011). Enriquecimiento antioxidante y protección antifúngica de frutos de fresa mediante el tratamiento de aceite de hoja de canela. Tesis de licenciatura. Instituto Tecnológico de Los Mochis.

Oussalah, M., S. Caillet, S. Salmieri, L. Saucier y M. Lacroix (2004). Antimicrobial and antioxidant effects of milk protein-based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. *J. Agr. Food Chem.* 52(18): 5598-5605.

Özcan, M. M. y J. C. Chalchat (2009). Chemical composition and antimicrobial properties of the essential oil of *Origanum saccatum* L. *J. Food Safety* 29(4): 617-628.

Ozkan, G., H. Baydar y S. Erbas (2010). The influence of harvest time on essential oil composition, phenolic constituents and antioxidant properties of Turkish oregano (*Origanum onites* L.). *J. Sci. Food Agr.* 90(2): 205-209.

Perez-Alfonso, C. O., D. Martinez-Romero, P. J. Zapata, M. Serrano, D. Valero y S. Castillo (2012). The effects of essential oils carvacrol and thymol on growth of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* involved in lemon decay. *Int. J. Food Microbiol.* 158(2): 101-106.

Phillips, C. A., K. Laird y S. C. Allen (2012). The use of Citri-V (TM)(R) - An antimicrobial citrus essential oil vapour for the control of *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus niger* and *Alternaria alternata in vitro* and on food. *Food Res. Int.* 47(2): 310-314.

Plotto, A., D. D. Roberts y R. G. Roberts (2003). Evaluation of plant essential oil as natural postharvest disease control of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Acta Hort.* 628: 737-745.

Pompella, A., A. Visvikis, A. Paolicchi, V. D. Tata y A. F. Casini (2003). The changing faces of glutathione, a cellular protagonist. *Biochem. Pharmacol.* 66(8): 1499-1503.

Portillo-Ruiz, M. C., R. Avila-Sosa Sanchez, S. Viramontes Ramos, J. V. Torres Munoz y G. Virginia Nevarez-Moorillon (2012). Antifungal effect of mexican oregano (*Lippia berlandieri* Schauer) essential oil on a wheat flour-based medium. *J. Food Sci.* 77(8): M441-M445.

Portillo-Ruiz, M. C., S. Viramontes-Ramos, L. N. Munoz-Castellanos, M. G. Gastelum-Franco y G. V. Nevarez-Moorillon (2005). Antifungal activity of Mexican oregano (*Lippia berlandieri* Shauer). *J. Food Protect.* 68(12): 2713-2717.

Pose, G., A. Patriarca, V. Kyanko, A. Pardo y V. Fernández Pinto (2009). Effect of water activity and temperature on growth of *Alternaria alternata* on a synthetic tomato medium. *Int. J. Food Microbiol.* 135(1): 60-63.

Pozzatti, P., É. S. Loreto, D. A. Nunes Mario, L. Rossato, J. M. Santurio y S. H. Alves (2010). Activities of essential oils in the inhibition of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* germ tube formation. *J. Mycol. Med.* 20(3): 185-189.

Pozzatti, P., L. A. Scheid, T. B. Spader, M. L. Atayde, J. M. Santurio y S. H. Alves (2008). *In vitro* activity of essential oils extracted from plants used as spices against fluconazole-resistant and fluconazole-susceptible *Candida* spp. *Can. J. Microbiol.* 54(11): 950-956.

Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang y C. Rice-Evans (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26(9-10): 1231-1237.

Rivero-Cruz, I., G. Duarte, A. Navarrete, R. Bye, E. Linares y R. Mata (2011). Chemical composition and antimicrobial and spasmolytic properties of *Poliomintha longiflora* and *Lippia graveolens* essential oils. *J. Food Sci.* 76(2): C309-C317.

Rodriguez-Lafuente, A., C. Nerin y R. Batlle (2010). Active Paraffin-Based Paper Packaging for Extending the Shelf Life of Cherry Tomatoes. *J. Agr. Food Chem.* 58(11): 6780-6786.

Ruiz-Navajas, Y., M. Viuda-Martos, E. Sendra, J. A. Perez-Alvarez y J. Fernández-López (2013). *In vitro* antibacterial and antioxidant properties of

chitosan edible films incorporated with *Thymus moroderi* or *Thymus piperella* essential oils. *Food Control* 30(2): 386-392.

Ryan, E., S. A. Aherne, M. N. O'Grady, L. McGovern, J. P. Kerry y N. M. O'Brien (2009). Bioactivity of Herb-Enriched Beef Patties. *J. Med. Food* 12(4): 893-901.

Salgueiro, L. R., C. Cavaleiro, M. J. Goncalves y A. P. da Cunha (2003). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* from Guatemala. *Planta Med.* 69(1): 80-83.

Sánchez-Domínguez, D., M. Y. Ríos, P. Castillo-Ocampo, G. Zavala-Padilla, M. Ramos-García y S. Bautista-Baños (2011). Cytological and biochemical changes induced by chitosan in the pathosystem *Alternaria alternata*–tomato. *Pestic. Biochem. Phys.* 99(3): 250-255.

Sánchez-Escalante, A., D. Djenane, G. Torrescano, J. A. Beltrán y P. Roncales (2003). Antioxidant action of borage, rosemary, oregano, and ascorbic acid in beef patties packaged in modified atmosphere. *J. Food Sci.* 68(1): 339-344.

Santoro, G., M. das Graças Cardoso, L. Guimarães, A. Salgado, R. Menna-Barreto y M. Soares (2007). Effect of oregano (*Origanum vulgare* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oils on *Trypanosoma* (Protozoa: *Kinetoplastida*) growth and ultrastructure. *Parasitol. Res.* 100(4): 783-790.

Savini, I., R. Arnone, M. V. Catani y L. Avigliano (2009). *Origanum Vulgare* induces apoptosis in human colon cancer Caco(2) cells. *Nutr Cancer* 61(3): 381-389.

SEMARNAT. (2010). Manual que estable los criterios técnicos para el aprovechamientos sustentable de recursos forestales no maderables de clima árido y semiárido. de <http://www.semarnat.gob.mx/>.

Shan, B., Y. Z. Cai, M. Sun y H. Corke (2005). Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *J. Agr. Food Chem.* 53(20): 7749-7759.

Shojaee-Aliabadi, S., H. Hosseini, M. A. Mohammadifar, A. Mohammadi, M. Ghasemlou, S. M. Ojagh, S. M. Hosseini y R. Khaksar (2013). Characterization of antioxidant-antimicrobial κ-carrageenan films containing *Satureja hortensis* essential oil. *Int. J. Biol. Macromol.* 52(0): 116-124.

Silva, F. V., A. G. Guimaraes, E. R. S. Silva, B. P. Sousa-Neto, F. D. F. Machado, L. J. Quintans-Junior, D. D. R. Arcanjo, F. A. Oliveira y R. C. M. Oliveira (2012). Anti-inflammatory and anti-ulcer activities of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano. *J. Med. Food* 15(11): 984-991.

Silva, N. C. C. y A. Fernandes Junior (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *J. Venom. Anim. Toxins* 16(3): 402-413.

Sokovic, M., J. Glamoclija, P. D. Marin, D. Brkic y L. J. L. D. van Griensven (2010). Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an *in vitro* model. *Molecules* 15(11): 7532-7546.

Soylu, E. M., S. Kurt y S. Soylu (2010). *In vitro* and *in vivo* antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*. *Int. J. Food Microbiol.* 143(3): 183-189.

Teissedre, P. L. y A. L. Waterhouse (2000). Inhibition of oxidation of human low-density lipoproteins by phenolic substances in different essential oils varieties. *J. Agr. Food Chem.* 48(9): 3801-3805.

Tepe, B., A. Sihoglu-Tepe, D. Daferera, M. Polissiou y A. Sokmen (2007). Chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Clinopodium vulgare* L. *Food Chem.* 103(3): 766-770.

Tian, J., X. Ban, H. Zeng, B. Huang, J. He y Y. Wang (2011). *In vitro* and *in vivo* activity of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) against fungal spoilage of cherry tomatoes. *Food Control* 22(12): 1992-1999.

Tibaldi, G., E. Fontana y S. Nicola (2011). Growing conditions and postharvest management can affect the essential oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) letsvaart. *Ind Crop. Prod.* 34(3): 1516-1522.

Timoteo dos Santos, N. S., A. J. Alves Athayde Aguiar, C. E. Vasconcelos de Oliveira, C. V. de Sales, S. de Melo e Silva, R. S. da Silva, T. C. Montenegro Stamford y E. L. de Souza (2012). Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). *Food Microbiol.* 32(2): 345-353.

Tzortzakis, N. G. (2007). Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. *Innov. Food Sci. Emerg.* 8(1): 111-116.

Tzortzakis, N. G. (2010). Ethanol, vinegar and *Origanum vulgare* oil vapour suppress the development of anthracnose rot in tomato fruit. *Int. J. Food Microbiol.* 142(1-2): 14-18.

Ultee, A., M. H. J. Bennik y R. Moezelaar (2002). The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microb.* 68(4): 1561-1568.

Vernin, G., C. Lageot, E. M. Gaydou y C. Parkanyi (2001). Analysis of the essential oil of *Lippia graveolens* HBK from El Salvador. *Flavour Frag. J.* 16(3): 219-226.

Wang, C. Y., S. Y. Wang y C. Chen (2008). Increasing antioxidant activity and reducing decay of blueberries by essential oils. *J. Agr. Food Chem.* 56(10): 3587-3592.

Wang, C. Y., S. Y. Wang, J.-J. Yin, J. Parry y L. L. Yu (2007). Enhancing antioxidant, antiproliferation, and free radical scavenging activities in strawberries with essential oils. *J. Agr. Food Chem.* 55(16): 6527-6532.

Yaldiz, G., N. Sekeroglu, M. Ozguven y M. Kirpik (2005). Seasonal and diurnal variability of essential oil and its components in *Origanum onites* L. grown in the ecological conditions of Cukurova. *Grasas Aceites* 56(4): 254-258.

Youdim, K. A. y S. G. Deans (2000). Effect of thyme oil and thymol dietary supplementation on the antioxidant status and fatty acid composition of the ageing rat brain. *Brit. J. Nutr.* 83(1): 87-93.

Yu, W., Q. Liu y S. J. Zhu (2013). Carvacrol protects against acute myocardial infarction of rats via anti-oxidative and anti-apoptotic pathways. *Biol. Pharm. Bull.* 36(4): 579-584.

Zivanovic, S., S. Chi y A. F. Draughon (2005). Antimicrobial activity of chitosan films enriched with essential oils. *J. Food Sci.* 70(1): M45-M51.